



Apports des techniques analytiques couplées à la connaissance de la spéciation de l'uranium en conditions naturelles

Jérémy Petit

► To cite this version:

Jérémy Petit. Apports des techniques analytiques couplées à la connaissance de la spéciation de l'uranium en conditions naturelles. Autre. Ecole Centrale Paris, 2009. Français. NNT : 2009ECAP0018 . tel-00453300

HAL Id: tel-00453300

<https://theses.hal.science/tel-00453300>

Submitted on 4 Feb 2010

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



ÉCOLE CENTRALE DES ARTS ET
MANUFACTURES

« ÉCOLE CENTRALE PARIS »

THÈSE

présentée par

Jeremy PETIT

pour l'obtention du

**GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES
DE L'ÉCOLE CENTRALE PARIS**

Spécialité : Chimie Analytique

Laboratoires d'accueil :

Commissariat à l'Energie Atomique / Saclay / DPC / SECR / LANIE et L3MR

**SUJET : APPORTS DES TECHNIQUES ANALYTIQUES
COUPLEES A LA CONNAISSANCE DE LA SPECIATION
DE L'URANIUM EN CONDITIONS NATURELLES.**

Soutenue le 17 juin 2009 devant la Commission d'examen :

<i>Président</i>	Dominique	PAREAU	(ECP)
<i>Rapporteur</i>	Anne	VARENNE	(ENSCP)
<i>Rapporteur</i>	Pierre	CHAMINADE	(Paris Sud XI)
<i>Directeur de thèse</i>	Moncef	STAMBOULI	(ECP)
<i>Co-directeur de thèse</i>	Catherine	BEAUCAIRE	(CEA Saclay)
<i>Examineur</i>	Valérie	GEERTSEN	(CEA Saclay)
<i>Invité</i>	Jean	AUPIAIS	(CEA DAM IdF)

Numéro d'ordre : 2009ECAP0018.

TABLE DES MATIERES

Glossaire des abréviations et notations.....	6
Table des figures.....	9
Table des tableaux.....	12
Résumés.....	14
Remerciements.....	16
Introduction.....	18
I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement.....	21
I.1. La spéciation.....	22
I.1.1. Définition du concept de spéciation.....	22
I.1.2. Challenges de l'analyse de la spéciation	22
I.1.3. Méthodes analytiques d'étude de la spéciation.....	23
I.2. La spéciation des radionucléides dans l'environnement.....	24
I.2.1. Le contexte du stockage géologique.....	24
I.2.2. Quelques études menées précédemment au CEA.....	25
I.3. Biogéochimie de l'uranium.....	26
I.3.1. Etats d'oxydation de l'uranium dans l'environnement.....	27
I.3.2. Complexation de l'uranium par les anions inorganiques.....	27
I.3.3. Complexation de l'ion uranyle par la matière organique du sol.....	28
I.3.3.1. Complexation de l'ion uranyle par les substances humiques.....	28
I.3.3.1.1. GENERALITES SUR LES SUBSTANCES HUMIQUES.....	28
I.3.3.1.2. INTERACTIONS ENTRE L'ION URANYLE ET LES SUBSTANCES HUMIQUES.....	30
I.3.3.2. Complexation de l'ion uranyle par les acides organiques dans l'environnement.....	31
I.3.4. Interactions entre l'uranium et la biosphère.....	34
I.3.5. Interactions entre l'uranium et la phase minérale du sol.....	36
I.3.5.1. Adsorption de l'uranium par la phase minérale du sol.....	36
I.3.5.2. Précipitation de l'uranium.....	38
I.4. Conclusion intermédiaire : détermination du système d'étude de la thèse.....	39
I.5. Diagrammes de spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques.....	41
I.5.1. Bases de données de complexation.....	41
I.5.2. Choix des conditions analytiques d'étude.....	43
I.5.3. Système uranyle-oxalate.....	44
I.5.4. Système uranyle-acides organiques.....	47
I.5.5. Spéciation de l'uranium dans une eau naturelle.....	48
II. Méthodes analytiques.....	50
II.1. Le spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif (ICPMS)	51
II.1.1. Nébuliseur.....	52
II.1.2. Chambre de nébulisation.....	52

Table des matières

II.1.3. Torche à plasma.....	53
II.1.4. Extraction des ions du plasma.....	54
II.1.5. Optique ionique.....	54
II.1.6. Analyseur.....	55
II.1.7. Détecteur.....	55
II.2. La chromatographie liquide.....	56
II.2.1. Principe de séparation.....	56
II.2.2. Phases stationnaires adaptées à la séparation d'ions.....	57
II.2.2.1. Chromatographie à polarité de phases inversées.....	57
II.2.2.2. Chromatographie d'échange d'ions.....	57
II.2.2.3. Chromatographie d'exclusion d'ions.....	58
II.2.2.4. Chromatographie d'appariement d'ions.....	59
II.2.2.5. Chromatographie sur carbone graphitique poreux.....	60
II.3. Couplage LC-ICPMS : Fonctionnement et principales limitations.....	60
II.4. L'électrophorèse capillaire.....	62
II.4.1. Principe de migration des ions.....	62
II.4.2. Vitesse et mobilité électroosmotiques.....	64
II.4.3. Mobilité électrophorétique.....	65
II.4.4. Mobilité apparente.....	66
II.4.5. L'électrolyte support.....	67
II.4.5.1. Transport du courant électrique.....	67
II.4.5.2. Répétabilité des analyses par EC.....	68
II.4.5.2.1. EFFET DU PH ET DE LA NATURE DU CAPILLAIRE.....	68
II.4.5.2.2. EFFET DE LA FORCE IONIQUE.....	69
II.4.5.2.3. EFFET DES MODIFICATEURS ORGANIQUES.....	70
II.4.5.2.4. EFFET JOULE.....	72
II.4.5.2.5. SUPPORT DE LA DETECTION.....	72
II.5. Couplage EC-ICPMS.....	72
II.5.1. Généralités.....	72
II.5.2. Principales difficultés.....	73
II.5.3. Les interfaces EC-(ICP)MS dans la littérature.....	74
II.5.4. Les différents types de nébuliseurs.....	76
II.5.5. La double détection.....	78
III. Etude de la spéciation de l'uranium par LC-ICPMS.....	80
III.1. Séparation d'acides organiques simples et de leurs complexes métalliques par chromatographie liquide : état de l'art.....	81
III.2. Vérification par spectrophotométrie UV/vis. de la présence de complexes uranyle-oxalate dans les échantillons synthétiques.....	82
III.2.1. Démarche de l'étude.....	83
III.2.2. Résultats.....	83
III.3. Séparation des complexes de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS.....	85
III.3.1. Principe de l'étude.....	85
III.3.2. Séparation des acides organiques d'intérêt.....	86
III.4. Etude de la complexation entre l'uranium et les acides organiques par chromatographie liquide.....	89
III.4.1. Principe de l'étude.....	89
III.4.2. Chromatographie de phase inverse.....	89
III.4.3. Chromatographie d'échange d'anions.....	91

Table des matières

III.4.4. Chromatographie d'exclusion d'ions.....	94
III.4.5. Conclusion intermédiaire : étude de la spéciation de l'uranium par LC-ICPMS.....	95
IV. Mesures de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par couplage EC-ICPMS.....	97
IV.1. Thermodynamique des solutions aqueuses.....	98
IV.1.1. Loi d'action de masse.....	98
IV.1.2. Solutions réelles.....	100
IV.1.3. Modèles disponibles pour le calcul des coefficients d'activité.....	101
IV.1.4. Théorie des Interactions Spécifiques.....	102
IV.1.5. Equation de Davies.....	103
IV.2. Détermination de constantes de complexation par couplage EC-ICPMS.....	105
IV.2.1. Stabilité d'un complexe métal-ligand.....	105
IV.2.2. Electrophorèse capillaire d'affinité et isotherme de complexation.....	107
IV.2.3. Traitement mathématique des données expérimentales.....	110
IV.2.3.1. Constante de complexation 1:1.....	110
IV.2.3.2. Constantes de complexations successives.....	112
IV.2.3.3. Correction des constantes de complexation apparentes.....	113
IV.2.4. Application aux systèmes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate.....	115
IV.2.4.1. Publication n°1 : Metal complexes stability constant determination by hyphenation of capillary electrophoresis with inductively coupled plasma mass spectrometry : the case of 1:1 metal-to-ligand stoichiometry.....	116
IV.2.4.2. Publication n°2 : Stability constants determination of successive metal complexes by hyphenated capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry: application to uranyl-oxalate system.....	136
IV.3. Détermination de mobilités électrophorétiques absolues.....	154
IV.3.1. Théorie des électrolytes.....	154
IV.3.1.1. Conductivité équivalente.....	154
IV.3.1.2. Loi restreinte de Debye-Hückel.....	154
IV.3.1.3. Equation d'Onsager.....	155
IV.3.1.4. Loi étendue de Debye-Hückel / Equation de Davies.....	156
IV.3.1.5. Equation de Pitt.....	157
IV.3.2. Détermination des mobilités électrophorétiques absolues des acides organiques d'intérêt.....	157
IV.3.3. Détermination des mobilités électrophorétiques absolues des complexes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate.....	159
IV.3.4. Estimation des mobilités électrophorétiques de complexes métalliques par une méthode basée sur l'équation de la conductivité équivalente d'Anderko et Lencka	160
IV.3.4.1. Système lanthane-oxalate.....	161
IV.3.4.2. Système uranyle-oxalate.....	162
IV.4. Bilan : apports de l'EC-ICPMS à l'étude de spéciation de l'uranium.....	163
IV.4.1. Conclusions intermédiaires de l'étude menée par EC-ICPMS.....	164
IV.4.2. Diagrammes de spéciation de l'uranium en conditions naturelles.....	166
V. Conclusion générale de la thèse / Perspectives.....	173
VI. Annexes.....	178
I.3. Généralités sur l'uranium.....	179
I.3.1. Propriétés physiques.....	179
I.3.2. Propriétés nucléaires.....	179
I.3.3. Propriétés chimiques.....	180
I.3.3.1. Principaux composés de l'uranium.....	180

Table des matières

I.3.3.2. Propriétés d'oxydoréduction.....	180
I.3.3.2.1. EN MILIEU ACIDE (PH=0).....	180
I.3.3.2.2. EN MILIEU BASIQUE (PH=14).....	180
I.3.3.3. Hydrolyse des ions uranium.....	181
I.3.3.4. Principaux complexants des ions uranium.....	182
VI.2. Instrumentation.....	185
VI.2.1. ICPMS.....	185
VI.2.2. Chromatographie ionique.....	185
VI.2.2.1. Chromatographie à polarité de phases inversées.....	185
VI.2.2.2. Chromatographie d'échange d'ions.....	186
VI.2.2.2.1. AS7 (DIONEX)	186
VI.2.2.2.2. AS16 (DIONEX)	186
VI.2.2.2.3. PROSWIFT WAX-1S (DIONEX)	187
VI.2.2.3. Chromatographie d'exclusion d'ions.....	187
VI.2.2.4. Chromatographie d'appariement d'ions.....	187
VI.2.2.5. Chromatographie sur carbone graphitique poreux.....	188
VI.2.3. Electrophorèse capillaire.....	188
VI.2.4. Interface de couplage EC-ICPMS.....	188
VI.2.5. Spectrophotomètre UV/visible.....	189
VI.3. Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse.....	190
VI.3.1. Nébuliseur.....	190
VI.3.1.1. Nébuliseur pneumatique.....	190
VI.3.1.2. Nébuliseur ultrasonique.....	191
VI.3.1.3. Nébuliseur à injection directe.....	191
VI.3.2. Chambre de nébulisation.....	192
VI.3.2.1. Chambre de sédimentation.....	192
VI.3.2.2. Chambre cyclonique.....	192
VI.4. Théorie de la chromatographie liquide.....	193
VI.4.1. Temps et volume de rétention.....	193
VI.4.2. Sélectivité.....	194
VI.4.3. Résolution.....	194
VI.4.4. Efficacité.....	194
VI.4.5. Mécanismes de dispersion d'un pic d'élution.....	194
VI.5. Fonctionnement d'une électrophorèse capillaire.....	196
VI.5.1. Généralités.....	196
VI.5.2. Appareillage.....	196
VI.5.2.1. Structure générale de l'appareil d'électrophorèse capillaire.....	196
VI.5.2.2. Injection de l'échantillon.....	197
VI.5.2.2.1. INJECTION HYDRODYNAMIQUE PAR SURPRESSION.....	197
VI.5.2.2.2. INJECTION HYDRODYNAMIQUE PAR GRAVITE.....	198
VI.5.2.2.3. INJECTION ELECTROKINETIQUE.....	198
VI.5.2.3. Détection de l'échantillon.....	199
VI.5.2.3.1. DETECTION UV/VIS. DIRECTE.....	199
VI.5.2.3.2. DETECTION UV/VIS. INDIRECTE.....	199
VI.6. Spectrophotométrie UV/visible.....	201
VI.6.1. Principe de fonctionnement.....	201
VI.6.2. Loi de Beer-Lambert.....	202
VI.7. Chromatogrammes et figures correspondant aux expériences de séparation des acides organiques hydrophiles (cf tableaux 6a et 6b)	204
VI. 8. Optimisation du couplage EC-ICPMS.....	209
VI.8.1. Optimisation des procédures analytiques de l'EC.....	209

Table des matières

VI.8.1.1. Loi d'Ohm.....	209
VI.8.1.2. Préconditionnement du capillaire.....	210
VI.8.1.3. Choix du marqueur neutre.....	210
VI.8.1.4. Choix du type de capillaire grâce à la méthode de Vigh.....	212
VI.8.1.4.1. CAPILLAIRES ETUDIES.....	212
VI.8.1.4.2. PROTOCOLE DE GREFFAGE PAR L'HPH DES CAPILLAIRES DE SILICE.....	213
VI.8.1.4.3. METHODE DE VIGH.....	213
VI.8.1.4.4. APPLICATION AU CHOIX DU TYPE DE CAPILLAIRE.....	214
VI.8.2. Optimisation du fonctionnement du couplage EC-ICPMS.....	215
VI.8.2.1. Optimisation de la position du capillaire dans l'interface.....	215
VI.8.2.2. Optimisation de la longueur de capillaire.....	218
VI.9. Etude de la complexation entre l'uranium et la DFO.....	220
VI.9.1. Principe de l'étude.....	220
VI.9.2. Etude de la complexation U-DFO par EC-ICPMS.....	221
VI.9.3. Etude de la complexation U-DFO par spectrophotométrie UV/vis.	224
Références bibliographiques.....	227

GLOSSAIRE DES ABREVIATIONS ET NOTATIONS

Notations

a_i	activité de l'espèce i
A_λ	absorbance de la solution à la longueur d'onde λ
C	concentration molaire
$-\text{COOH}$	groupement fonctionnel (carboxylique) d'une molécule
$\equiv\text{COOH}$	site fonctionnel (carboxylique) d'un minéral ou d'une phase stationnaire
d	densité
e	charge élémentaire ($e \approx 1,6 \cdot 10^{-19} \text{C}$)
ϵ_A	coefficient d'absorptivité molaire de l'espèce A
E	champ électrique
E_h	potentiel d'oxydoréduction
F	constante de Faraday ($F \approx 96500 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$)
\vec{F}	force
G	enthalpie libre
g	accélération de la pesanteur
h	hauteur
H	hauteur de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique
I	force ionique d'une solution
I_λ	intensité du rayonnement à la longueur d'onde λ
$j=1-n$	valable pour j variant de 1 à n
k_B	constante de Boltzmann ($k_B \approx 1,38 \cdot 10^{-23} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$)
k_d	constante cinétique de dissociation d'un complexe
k_f	constante cinétique de formation d'un complexe
k_{-w}	constante d'échange de l'eau entre sphères externe et interne
k'	facteur de capacité d'une colonne
K	constante de complexation (généralement, du complexe 1-1)
K_{OS}	constante de complexation en sphère externe
K_p	coefficient de partage d'une espèce entre deux phases
l ou L	longueur
m/z	rapport masse sur charge d'un ion
M	nombre de masse
ML_j	complexe métal-ligand 1- j
n_i	nombre de moles de l'espèce i
N	nombre de plateaux théoriques d'une colonne chromatographique
N_A	nombre d'Avogadro ($N_A \approx 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$)
$o.o.$	ordonnée à l'origine d'une régression linéaire
p	pente d'une régression linéaire
pK_A	constante d'acidité
q_s	charge surfacique
r	rayon ionique
R	constante des gaz parfaits ($R \approx 8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$)

Glossaire des abréviations et notations

R_s	résolution chromatographique
s	section droite d'une colonne chromatographique
S	sensibilité réduite
t	temps (généralement de migration ou de rétention)
T	température
$t_{1/2}$	temps de demi-vie (d'un complexe)
u	vitesse linéaire de la phase mobile
U	tension
$U(VI)$	élément uranium à l'état d'oxydation VI
v	vitesse
V	volume
x°	valeur standard du paramètre x (à 25°C et 1 bar)
z	charge d'un ion
Z	numéro atomique
α	sélectivité d'une colonne
α_j	fraction molaire d'une espèce
β_j	constante de complexation de ML_j
$\beta_{x,y}$	constante de complexation du complexe M_xL_y
$\beta^*_{x,y}$	constante d'hydrolyse du complexe $M_x(OH)_y$
γ_i	coefficient d'activité de l'espèce i
δ	épaisseur de la double couche ionique
$\Delta_r G^\circ$	enthalpie libre de réaction
ε	porosité
$\varepsilon_o, \varepsilon_r$	constantes diélectriques du vide et relative
$\varepsilon_{i,j}$	coefficient d'interaction spécifique entre les ions i et j
ζ	potentiel zêta d'une interface
η	viscosité dynamique
κ^{-1}	épaisseur du continuum ionique
λ	longueur d'onde
λ_i	conductivité ionique de l'ion i
Λ	conductivité globale d'une solution
μ	mobilité d'un ion
μ_{eo}	mobilité électroosmotique
μ_{ep}	mobilité électrophorétique
$\mu_{ep}(M)$	mobilité électrophorétique effective de l'ion M
μ_{app}	mobilité apparente
μ_i	potentiel chimique de l'espèce i
ρ	masse volumique
σ	écart-type
$\omega_{1/2}$	largeur d'un pic à mi-hauteur

Unités

AU	absorbance unit
----	-----------------

Glossaire des abréviations et notations

Da	dalton, unité de masse des molécules biologiques (1 Da = 1 g.mol ⁻¹)
eV	electronvolt
Hz	hertz (1 Hz = 1 s ⁻¹)
min	minute
ppb	partie par milliard i.e. µg.L ⁻¹
ppm	partie par million i.e. mg.L ⁻¹
W	watt

Abréviations

CEA	Commissariat à l'Energie Atomique
cmc	concentration micellaire critique
CTAB	famille de surfactants cationiques
DDAB	bromure de didodécyl diméthylammonium
DFO	desferrioxamine B
DIHEN	nébuliseur à injection directe à haute efficacité
DIN	nébuliseur à injection directe
DMF	diméthylformamide
DMSO	diméthylsulfoxyde
DTPA	acide diéthylène triamine pentaacétique
EC	électrophorèse capillaire
EC-ICPMS	couplage de l'électrophorèse capillaire avec l'ICPMS
EC-UV	électrophorèse capillaire utilisée en détection UV/vis.
EDTA	acide éthylène diamine tétra acétique
EOF	flux électroosmotique
ESMS	spectrométrie de masse à ionisation électrospray
HEN	nébuliseur haute efficacité
HPC	hydroxypolycellulose
ICPMS	spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif
LC	chromatographie en phase liquide
LC-ICPMS	couplage de la chromatographie liquide avec l'ICPMS
MCN	nébuliseur microconcentrique
MES	acide 2-(N-morpholino)ethanesulfonique
MSA	acide méthane sulfonique CH ₃ SO ₂ OH
NEA	OECD Nuclear Energy Agency
OCN	nébuliseur à capillaire oscillant
RF	radiofréquences
RMN	résonance magnétique nucléaire
SIT	théorie des interactions spécifiques
TBAB	bromure de tétrabutylammonium
THF	tétrahydrofurane
Tris	trishydroxyméthylaminométhane
UV/vis.	ultraviolet/visible

TABLE DES FIGURES

<u>Figure 1</u> : Techniques analytiques disponibles pour l'analyse de la spéciation de l'uranium.....	24
<u>Figure 2</u> : Caractéristiques des substances humiques en fonction de la masse moléculaire.....	29
<u>Figure 3</u> : Formules chimiques des principaux acides carboxyliques rencontrés dans les sols.....	32
<u>Figure 4</u> : Formules chimiques des acides benzoïques et cinnamiques, éventuellement substitués.....	33
<u>Figure 5</u> : Evolution de la charge surfacique de différents minéraux selon le pH.....	37
<u>Figure 6</u> : Schéma de la géochimie de l'uranium.....	40
<u>Figure 7</u> : Diagramme de spéciation uranyle-oxalate correspondant à l'échantillon n°1.....	45
<u>Figure 8</u> : Diagramme de spéciation uranyle-oxalate correspondant à l'échantillon n°3.....	45
<u>Figure 9</u> : Diagramme de spéciation uranyle-oxalate correspondant à l'échantillon n°5.....	46
<u>Figure 10</u> : Diagramme de spéciation de l'uranium en présence de six acides organiques.....	47
<u>Figure 11</u> : Diagramme de spéciation de l'uranium dans l'eau de sol.....	49
<u>Figure 12</u> : Schéma de principe de l'ICPMS Element 2.....	52
<u>Figure 13</u> : Schéma de principe d'une torche à plasma.....	53
<u>Figure 14</u> : Schéma d'une interface d'extraction des ions du plasma.....	54
<u>Figure 15</u> : Schéma de principe d'un analyseur à double secteur magnétique-électrostatique.....	55
<u>Figure 16</u> : Schéma d'un multiplicateur d'électrons	55
<u>Figure 17</u> : Schéma de principe de la chromatographie d'échange d'ions.....	58
<u>Figure 18</u> : Mécanismes de rétention en chromatographie d'appariement d'ions.....	59
<u>Figure 19</u> : Structure d'une phase stationnaire de type carbone graphitique poreux.....	60
<u>Figure 20</u> : Schéma de principe du couplage LC-ICPMS.....	61
<u>Figure 21</u> : Schéma de principe du déplacement des ions en EC.....	63
<u>Figure 22</u> : Représentation schématique de la double couche ionique à l'interface électrolyte-capillaire.....	64
<u>Figure 23</u> : Effet du pH de l'électrolyte sur la mobilité électroosmotique pour différents types de capillaires.....	69
<u>Figure 24</u> : Effet de la force ionique de l'électrolyte sur la mobilité électroosmotique dans un capillaire de silice fondue.....	69
<u>Figure 25</u> : Schéma de structure de (a) surfactants à simple chaîne et (b) surfactants à double chaîne.....	70
<u>Figure 26</u> : Stabilité du traitement dynamique de la surface du capillaire avec le C ₁₆ TAB et le DDAB.....	71
<u>Figure 27</u> : Schéma de principe d'une interface EC-ICPMS à débit coaxial.....	73
<u>Figure 28</u> : Fermeture du circuit électrique par ajout d'un liquide de compensation.....	74
<u>Figure 29</u> : Connexion électrique réalisée par un fil métallique.....	75
<u>Figure 30</u> : Schéma de l'appareillage utilisé pour la double détection.....	79
<u>Figure 31</u> : Spectres corrigés des différents ratios à une concentration de 10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ en uranium.....	83

Table des figures

<u>Figure 32</u> : Spectres corrigés des différents ratios à une concentration de 10^{-3} mol.L ⁻¹ en uranium.....	84
<u>Figure 33</u> : Comparaison des temps de rétention des acides organiques simples et de l'uranium.....	90
<u>Figure 34</u> : Analyse d'un mélange d'acides organiques et d'uranium.....	91
<u>Figure 35</u> : Chromatogrammes obtenus avec différents ratios uranium - acides organiques.....	92
<u>Figure 36</u> : Temps de rétention de l'uranium pour les différents ratios uranium - acides organiques.....	93
<u>Figure 37</u> : Chromatogrammes obtenus pour l'échantillon n°3.....	94
<u>Figure 38</u> : Modèle simplissime de dissociation d'un complexe ML par séparation électrophorétique.....	105
<u>Figure 39</u> : Diagramme de stabilité des complexes métal-ligand.....	106
<u>Figure 40</u> : Schematic representation of the laboratory made system.....	122
<u>Figure 41</u> : Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and comparison with the theoretical data calculated with linear regressions.....	129
<u>Figure 42</u> : Evolution of uranium electrophoretic mobility with total oxalate concentration and comparison with the theoretical data calculated with linear regressions.....	133
<u>Figure 43</u> : Speciation diagram for uranyl-oxalate system.....	144
<u>Figure 44</u> : Uranium electrophoretic mobility versus total oxalate concentration and non-linear fitting of experimental data.....	146
<u>Figure 45</u> : Speciation diagram for lanthanum-oxalate system.....	149
<u>Figure 46</u> : Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and non-linear fitting considering two complexed forms	150
<u>Figure 47</u> : Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and non-linear fitting considering three complexed forms.....	151
<u>Figure 48</u> : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) dans l'eau pure à pH = 7.....	167
<u>Figure 49</u> : Diagramme de Pourbaix de l'uranium à une concentration totale de 10^{-6} mol.L ⁻¹ dans l'eau pure.....	169
<u>Figure 50</u> : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à pH = 7 en présence de carbonates.....	169
<u>Figure 51</u> : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à pH = 7 en présence de carbonates et d'oxalates.....	170
<u>Figure 52</u> : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à pH = 7 en présence de $2,6 \cdot 10^{-3}$ mol.L ⁻¹ de carbonates et d'oxalates.....	171
<u>Figure 53</u> : Schéma de l'interface Mira Mist CE utilisée au cours de la thèse.....	189
<u>Figure 54</u> : Variation de la hauteur de plateau en fonction de la vitesse linéaire de l'écoulement ; modélisation de Knox.....	195
<u>Figure 55</u> : Schéma de principe de l'électrophorèse capillaire.....	196
<u>Figure 56</u> : Niveaux énergétiques électronique, de vibration et de rotation et spectres d'absorption correspondants.....	202
<u>Figure 57</u> : Schéma d'une cellule d'absorption.....	202

Table des figures

<u>Figure 58</u> : Influence de la concentration en sulfate d'ammonium sur la séparation de 6 acides organiques d'intérêt.....	204
<u>Figure 59</u> : Influence de la concentration en acide chlorhydrique sur la séparation de 6 acides organiques d'intérêt.....	205
<u>Figure 60</u> : Influence de la concentration en acide chlorhydrique sur la rétention de 9 acides organiques...	205
<u>Figure 61</u> : Influence de la concentration en chlorure d'ammonium sur la rétention des 9 acides organiques	206
<u>Figure 62</u> : Courbe de Van Deemter relative à la colonne ProSwift WAX-1S : évolution de la hauteur de plateau en fonction du débit de phase mobile.....	207
<u>Figure 63</u> : Chromatogrammes obtenus avec la concentration d'éluant optimisée.....	207
<u>Figure 64</u> : Superposition des chromatogrammes obtenus avec l'éluant standard.....	208
<u>Figure 65</u> : Loi d'Ohm pour l'électrolyte utilisé pour la détermination des constantes de complexation du système uranyle-oxalate.....	209
<u>Figure 66</u> : Electrophorégramme du méthanol dans les conditions analytiques décrites précédemment.....	211
<u>Figure 67</u> : Electrophorégramme du DMSO dans les conditions analytiques décrites précédemment.....	212
<u>Figure 68</u> : Méthode de Vigh.....	214
<u>Figure 69</u> : Photographie du dispositif développé au laboratoire (avec l'aide de Michel Tabarant du laboratoire CEA/DANS/DCP/LRSI) pour la mesure de la distance entre l'extrémité du capillaire et le nez du nébuliseur.....	216
<u>Figure 70</u> : Schéma du dispositif permettant le suivi de la position du capillaire.....	216
<u>Figure 71</u> : Variation du paramètre de sensibilité S en fonction de la position du capillaire.....	217
<u>Figure 72</u> : Efficacité du pic du lanthane en fonction de la longueur totale du capillaire.....	219
<u>Figure 73</u> : Formule chimique du sidérophore DFO.....	220
<u>Figure 74</u> : Electrophorégramme de l'uranium libre.....	221
<u>Figure 75</u> : Electrophorégramme de l'uranium en présence de DFO.....	222
<u>Figure 76</u> : Electrophorégramme obtenu avec un échantillon contenant uranium et DFO.....	223
<u>Figure 77</u> : Evolution de l'absorbance de la solution en fonction de la concentration totale d'uranium ajouté pour $\lambda = 383 \text{ nm}$	225
<u>Figure 78</u> : Evolution de l'absorbance de la solution en fonction de la concentration totale d'uranium ajouté pour $\lambda = 489 \text{ nm}$	225

TABLE DES TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : pK _A de quelques acides carboxyliques rencontrés dans les sols.....	33
<u>Tableau 2</u> : Principales constantes de complexation utilisées dans la modélisation de la spéciation de l'uranium.....	42
<u>Tableau 3</u> : Concentrations en acides organiques et en uranium dans les échantillons analysés (par LC-ICPMS).....	44
<u>Tableau 4</u> : Concentrations moyennes dans l'eau de sol.....	48
<u>Tableau 5</u> : Caractéristiques de différents nébuliseurs utilisés pour le couplage EC-ICPMS.....	76
<u>Tableau 6</u> : Synthèse des résultats obtenus pour les expériences de séparation des acides organiques simples.....	87,88
<u>Tableau 7</u> : Régressions linéaires correspondant aux équations 59 à 62 et calcul de K et $\mu(\text{ML})$	111
<u>Tableau 8</u> : Calculs des écarts-types de K et $\mu(\text{ML})$	112
<u>Table 9</u> : Use of the double detection method for the calculation of La ³⁺ electrophoretic mobilities from migrations times.....	121
<u>Table 10</u> : Linear regressions of the binding isotherm in the case of 1:1 complexation.....	125
<u>Table 11</u> : Summary of the experimental parameters fixed for lanthanum-oxalate stability constant determination.....	128
<u>Table 12</u> : Apparent stability constant K and electrophoretic mobility of the complex LaOxa ⁺ obtained with the different linear regressions, and associated uncertainties (2 σ)	129
<u>Table 13</u> : Apparent stability constant K _{app} and electrophoretic mobility of the complex UO ₂ Oxa obtained with the different linear regressions, and associated uncertainties (2 σ)	133
<u>Table 14</u> : Analytical conditions.....	138
<u>Table 15</u> : Apparent stability constants $\beta_{j,\text{app}}$ (j = 1-3) and electrophoretic mobilities $\mu(\text{ML}_j)$ of the uranyl-oxalate system evaluated by non-linear correlation.....	146
<u>Table 16</u> : Thermodynamic stability constants β_j (j = 1-3) of the uranyl-oxalate system at infinite dilution and comparison with literature values.....	148
<u>Table 17</u> : Thermodynamic stability constants β_j (j = 1-3) of the lanthanum-oxalate system at infinite dilution and comparison with literature values.....	152
<u>Tableau 18</u> : Mobilités électrophorétiques moyennes des acides organiques.....	158
<u>Tableau 19</u> : Mobilités électrophorétiques des acides organiques étudiés à force ionique 0,01 mol.L ⁻¹ μ_i et à dilution infinie μ_i°	159
<u>Tableau 20</u> : Mobilités électrophorétiques des complexes uranyle-oxalate à force ionique 0,1 mol.L ⁻¹ μ_i et à dilution infinie μ_i° , ainsi que leurs incertitudes associées.....	159

Table des tableaux

<u>Tableau 21</u> : Mobilités électrophorétiques des complexes lanthane-oxalate à force ionique 0,1 mol.L ⁻¹ μ_i et à dilution infinie μ_i° , ainsi que leurs incertitudes associées.....	160
<u>Tableau 22</u> : Mobilités électrophorétiques des complexes lanthane-oxalate à dilution infinie μ_i° ; comparaison entre les résultats obtenus par couplage EC-ICPMS et les estimations basées sur l'équation 130.....	161
<u>Tableau 23</u> : Mobilités électrophorétiques des complexes uranyle-oxalate à dilution infinie μ_i° ; comparaison entre les résultats obtenus par couplage EC-ICPMS et les estimations basées sur l'équation 130.....	162
<u>Tableau 24</u> : Mesures réalisées au piézomètre PZPK sur le site du Bouchet.....	168
<u>Tableau 25</u> : Comparaison des constantes de complexation du système uranyle-oxalate issues de BASSIST et de cette thèse.....	171
<u>Tableau 26</u> : Constantes d'hydrolyse de l'uranium aux états d'oxydation (+IV) et (+VI).....	182
<u>Tableau 27</u> : Constantes de complexation de l'uranium(IV) avec les principaux ligands inorganiques et organiques.....	183
<u>Tableau 28</u> : Constantes de complexation de l'uranium(VI) avec les principaux ligands inorganiques et organiques.....	184
<u>Tableau 29</u> : Mesure de l'efficacité de la colonne ProSwift WAX-1S à différents débits de phase mobile.....	206
<u>Tableau 30</u> : Temps de migration de divers marqueurs neutres.....	211
<u>Tableau 31</u> : Mesures des flux électroosmotiques de différents capillaires par la méthode de Vigh.....	215

RESUME

La compréhension des mécanismes de transport et du comportement des radionucléides dans la biogéosphère sont nécessaires à l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux de l'industrie nucléaire. Ces mécanismes sont contrôlés par la spéciation des radioéléments, c'est-à-dire leur répartition entre leurs différentes formes physico-chimiques dans l'environnement. Dans cette optique, cette thèse traite de la spéciation de l'uranium en milieu naturel. La biogéochimie de l'uranium a fait l'objet d'une synthèse bibliographique détaillée, qui a permis de restreindre le sujet à la complexation de l'uranium par l'acide oxalique, un acide organique hydrophile fréquemment rencontré dans les sols et doté de bonnes propriétés de complexation. L'établissement de diagrammes de spéciation à partir des constantes de complexation de la littérature a permis de définir les conditions analytiques de formation des complexes.

Le choix de la technique analytique s'est porté sur le couplage d'une technique séparative (chromatographie liquide LC ou électrophorèse capillaire EC) à la spectrométrie de masse (ICPMS). La présence des complexes étudiés dans les échantillons synthétiques a été vérifiée par spectrophotométrie UV/visible. Les analyses menées par LC-ICPMS ont prouvé la labilité des complexes uranyle-acides organiques, c'est-à-dire leur propension à se dissocier pendant l'analyse, ce qui empêche une détermination fiable de la spéciation de l'uranium.

En revanche, l'étude des complexes labiles d'un système métal-ligand par EC-ICPMS a été rendue possible par l'emploi de la méthode d'affinité, permettant de déterminer les constantes de complexations et les mobilités électrophorétiques. Cette thèse a permis de comparer les différentes méthodes de traitement mathématique de l'isotherme de complexation et de prendre en compte la force ionique et la concentration réelle du ligand. La méthode d'affinité a été employée avec succès sur les systèmes lanthane-oxalate, pris comme modèle, et uranyle-oxalate. Les résultats obtenus ont été validés sur un système naturel (site du Bouchet). Ceci montre l'apport de la méthode mise au point dans la modélisation de la spéciation de l'uranium.

SUMMARY

To understand the transport mechanisms and the radionuclides behaviour in the biogeosphere is necessary to evaluate healthy and environmental risks of nuclear industry. These mechanisms are monitored by radioelements speciation, namely the distribution between their different physico-chemical forms in the environment. From this perspective, this PhD thesis deals with uranium speciation in a natural background. A detailed summary of uranium biogeochemistry has been written, which enables to restrict the PhD issue to uranium complexation with oxalic acid, a hydrophilic organic acid with good binding properties, ubiquitous in soil waters. Analytical conditions have been established by means of speciation diagrams. The speciation diagrams building by means of literature stability constants has allowed to define the analytical conditions of complex formation.

The chosen analytical technique is the hyphenation of a separative technique (liquid chromatography LC or capillary electrophoresis CE) with mass spectrometry (ICPMS). The studied complexes presence in the synthetic samples has been confirmed with UV/visible spectrophotometry. LC-ICPMS analyses have proved the lability of the uranyl-organic acid complexes, namely their tendency to dissociate during analysis, which prevents from studying uranium speciation.

CE-ICPMS study of labile complexes from a metal-ligand system has been made possible by employing affinity capillary electrophoresis, which enables to determine stability constants and electrophoretic mobilities. This PhD thesis has allowed to compare the different mathematical treatments of binding isotherm and to take into account ionic strength and real ligand concentration. Affinity CE has been applied successfully to lanthanum-oxalate (model system) and uranium-oxalate systems. The obtained results have been applied to a real system (situated in Le Bouchet). This shows the contribution of the developed method to the modelling of uranium speciation.

REMERCIEMENTS

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au Laboratoire d'Analyses Nucléaires Isotopiques et Élémentaires (LANIE) du Commissariat à l'Energie Atomique de Saclay. Je tiens ici à remercier toutes les personnes qui m'ont épaulé, soutenu et aidé au cours de cette thèse.

Je remercie pour leur accueil M. Christophe POINSSOT, Chef du Service d'Etudes du Comportement des Radionucléides (SECR) jusqu'en 2008 et M. Thierry ADVOCAT, qui a pris sa suite.

J'adresse mes remerciements à M. Frédéric CHARTIER, Mme Christine LAMOUROUX et Mme Florence GOUTELARD, chefs successifs du LANIE pendant les trois années de cette thèse, pour m'avoir accueilli au sein de leur équipe et donné les moyens de réaliser ce travail dans les meilleures conditions.

Je remercie chaleureusement les personnes qui m'ont encadré pour réaliser ce travail, Mme Catherine BEUCAIRE du CEA/L3MR, Mme Valérie GEERTSEN du CEA/LANIE et M. Moncef STAMBOULI du laboratoire LGPM de l'Ecole Centrale Paris. Je remercie Catherine pour sa bienveillance, sa culture et sa disponibilité, Valérie pour sa connaissance du milieu de la recherche et pour son écoute, M. Stambouli pour son regard critique et sa disponibilité.

J'adresse mes remerciements aux membres de mon jury de thèse, qui ont accepté d'évaluer ce travail par le biais du mémoire et de la soutenance : il s'agit de Dominique PAREAU, de la direction des Etudes de l'Ecole Centrale Paris, d'Anne VARENNE, de l'UMR 7195 de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris, de Pierre CHAMINADE, du service Chimie Analytique de la Faculté de Pharmacie de Paris Sud, ainsi que Jean AUPIAIS du CEA/DAM/IdF. Je remercie toutes ces personnes pour leurs gentilles remarques lors de la soutenance, et plus particulièrement, je suis reconnaissant envers Anne et Jean pour les nombreuses discussions que nous avons eu et qui ont permis de mener ce sujet de thèse à terme dans les meilleures conditions.

D'autres personnes ayant participé à ce travail doivent évidemment être remerciées, je pense dans un premier temps aux personnes qui ont eu l'honneur ;) de m'aider dans les manip ou qui m'ont subi en tant que stagiaire : Anne-Laure JACQUET, Hao WANG et tout particulièrement Alexandre HEITZ. Un grand merci à Alex pour sa motivation inaltérable et sa bonne humeur contagieuse. Longue vie à ta gratte folk l'ami.

Dans un second temps, je pense à toutes les personnes qui ont apporté une pierre à l'édifice de cette thèse, soit Michel TABARANT du CEA/LRSI pour ses impressionnantes compétences instrumentales, Stéphanie DESCROIX de l'Ecole Supérieure de Physique et de Chimie de Paris pour sa gentillesse et ses remarques pertinentes, Sylvain TOPIN du CEA/DAM/IdF pour sa disponibilité inébranlable et pour m'avoir fait découvrir les joies de l'électrophorèse capillaire en mode couplé, Vannapha PHROMMAVAHN pour avoir ouvert la voie en matière d'étude du comportement de l'uranium dans l'environnement et pour ses explications toujours très pédagogiques, et Pascal REILLER pour ses connaissances en matière de calcul d'incertitudes.

Remerciements

Maintenant, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont été un peu plus que des collègues de travail et qui m'ont aidé à tenir le cap dans les heures les plus sombres ou les plus caniculaires de ce travail de thèse, il s'agit de Pierre IDIER le tatoué (Le pire de tous), Alexandre HEITZ (Alex, merci d'avoir supporté mes coups de stress), Nicolas AYCHET (Nico mon prof de musique personnel, merci pour ces sessions son à la forêt), Guillaume STADELMANN (l'Alsace, le Ch'minot, merci pour tes gentilles attentions (frottage de cheveux, pinçage de tétons, BD Sango jerem)), Vincent MERTENS (VinZ, merci de m'avoir abreuvé en dub électro, graff et skate), Julien BREVET (Grand Julien, merci pour ta connaissance infinie des films de science-fiction ou des séries télé débiles), et Georges FAVRE (Geo, merci d'avoir été là quand j'en avais besoin). D'autres personnes auront marqué mon séjour au CEA, je les liste ici dans un ordre totalement aléatoire : Edwige, Anthony (le gitan), Ali, Olga, Ivan, Hawa, la dream team du pigeonnier (Matthieu, Marc, Alkis, Séb, Guillaume l'imitateur, Geo, Grand Julien, et Noémie), les gentilles secrétaires Barbara et Geneviève, Karine, Fanny d'O., Denis Doizi, Fret' Le Belge, Céline G., Céline C. , Michel A., Bich, le LANIE 451 (Laurence, Pacscal, Carole, Thomas...), Mickael D., Nathalie, Xav', et j'en oublie sûrement beaucoup...

Un merci spécial à David Allen, Andrew Latimer, Graham Wiggins, George Orwell, Aldous Huxley, Boris Vian, Zalem, Alex-didgeridoo...

Je tiens aussi à remercier les amis les plus proches : Séb imotep, Tomtom le gendarme et Fanny et Brice, qui m'ont aidé à ne pas voir le temps passer pendant cette thèse.

Finalement, j'adresse un remerciement très spécial à ma famille (Mam, Pap, Benjamin, Jules, mamie Christiane, Michel G., mamie Colette, Papi Jojo, Malô, Claire, Serge et Romain) pour leurs encouragements incessants et pour le courage qu'ils m'ont insufflé au cours de cette thèse. Merci de m'avoir aidé à vivre cette expérience.

Malô, je ne saurai peut-être jamais comment te remercier pour tout ce que tu as fait pour m'aider dans mon travail et en dehors, pendant cette thèse qui a été au moins aussi éprouvante pour toi que pour moi. Merci de m'avoir aidé à prendre confiance en moi en croyant en moi. Je te souhaite à ton tour de réussir tes études en devenant j'imagine une bonne institutrice.

INTRODUCTION

La connaissance et la compréhension des mécanismes de transport et du comportement des radionucléides dans la biogéosphère sont nécessaires à l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux de l'industrie nucléaire. Dans cette optique, la spéciation des radioéléments doit être étudiée et cela consiste en la détermination de leur répartition entre leurs différentes formes physico-chimiques dans un milieu naturel donné. Ces formes physico-chimiques sont généralement nombreuses : espèces complexées par des ions inorganiques ou organiques, adsorbées sur des minéraux, colloïdales, particulières (précipités), etc... et éventuellement de degrés d'oxydation et de compositions isotopiques variés.

Or, la biogéochimie d'un élément (toxicité, mobilité, biodisponibilité...) est intrinsèquement dépendante de sa spéciation. Les études de spéciation ont donc pour objectif le développement d'outils analytiques et théoriques permettant de modéliser et prédire le comportement des éléments traces dans un milieu naturel, biologique ou industriel. Un soin particulier est alors attaché à la préparation d'échantillons et au choix des techniques analytiques, puisque les espèces chimiques étudiées sont souvent peu stables et présentes à l'état de traces. Les applications des études de spéciation concernent les mécanismes de bioaccumulation ou le métabolisme de radioéléments, l'identification de formes chimiques inconnues au sein d'une matrice complexe, ainsi que les procédés de dépollution, de décorporation et enfin dans les conditions de stockage des déchets nucléaires.

Ces dernières années, de nombreuses thèses menées au CEA ont eu pour objet la caractérisation des radionucléides et de leur spéciation, dans le cadre des études liées au stockage géologique de déchets nucléaires. La présente thèse traite de la spéciation de l'uranium dans l'environnement.

Plus précisément, le premier chapitre du mémoire consiste en une synthèse bibliographique de la biogéochimie de l'uranium, afin de cerner les phénomènes prépondérants dans la spéciation de l'uranium dans les eaux naturelles. En premier lieu, la spéciation de l'uranium est fortement influencée par la complexation avec les ions inorganiques tels que les carbonates ou les phosphates, ou avec les macromolécules organiques, comme les substances humiques ou les sidérophores. D'autre part, l'uranium est fortement sujet à l'hydrolyse, à l'adsorption sur les surfaces minérales chargées négativement ((hydroxy)oxydes de fer, argiles...), à la conversion en uranium(IV) peu soluble en conditions réductrices ou aux interactions avec le compartiment bactérien. Néanmoins, de petites molécules organiques, tels que les acides organiques hydrophiles de petite taille, peuvent jouer un rôle significatif dans certains contextes environnementaux, tels que les sols de tourbe, où la fraction de matière organique est importante. Finalement, cette étude bibliographique a fait apparaître la

Introduction

complexité de la biogéochimie de l'uranium, ainsi que l'intérêt pour les acides organiques simples.

En conséquence, le sujet de la thèse a été restreint à l'étude de la spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples, principalement l'acide oxalique. L'objectif de ce travail de thèse a principalement consisté à préciser les valeurs des constantes de complexation de l'uranium avec l'oxalate. En particulier, la récente étude menée sur le site du Bouchet [1] ont mis en évidence certaines incohérences dans les modèles géochimiques utilisant les bases de données thermodynamiques communément utilisées.

L'analyse de spéciation est généralement réalisée directement, afin de respecter au mieux la distribution des éléments analysés entre leurs différentes formes chimiques. Les techniques utilisées sont dédiées aux gammes de concentrations élevées. Ces dernières années, une nouvelle approche pour l'étude de la spéciation d'éléments traces a vu le jour et la présente thèse s'inscrit dans cette démarche : il s'agit de mettre à profit les multiples possibilités des techniques analytiques couplées : LC-ICPMS et EC-ICPMS. Ceci permet de bénéficier des avantages combinés d'une technique séparative de haute efficacité (chromatographie liquide [2] ou électrophorèse capillaire [3-5]) et d'un détecteur de grande sensibilité (spectrométrie de masse). L'acquisition de données thermodynamiques (constantes de complexation...) fiables se révèle donc possible même en travaillant à bas niveau. Quelques généralités sur le fonctionnement de ces techniques couplées sont rappelées au deuxième chapitre.

L'établissement de diagrammes de spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples a permis de définir les conditions analytiques et les protocoles de préparation d'échantillons synthétiques. Leur analyse par spectrophotométrie UV/vis. a prouvé la formation des complexes étudiés dans les échantillons préparés. Ensuite, le troisième chapitre débute par un état de l'art des principaux types de phases stationnaires employés en chromatographie liquide pour la séparation des acides organiques et de leurs complexes métalliques. Différents principes chromatographiques (phase dédiée, échange d'ions, exclusion d'ions, carbone graphitique poreux, appariement d'ions...) ont été testés et l'éluant correspondant a été optimisé pour permettre la meilleure séparation des acides organiques hydrophiles seuls, en respectant les limitations relatives au couplage LC-ICPMS au sujet de la composition de l'éluant. Les méthodes chromatographiques (couples phase stationnaire – phase mobile) optimales ont ensuite été appliquées à la séparation des espèces complexées de l'uranium avec les acides organiques. Malheureusement, les expériences menées au cours de la présente thèse ont montré que les différentes techniques chromatographiques conduisaient invariablement à la dissociation des complexes d'intérêt, ce qui a empêché l'acquisition de données de spéciation.

Introduction

Le recours à une autre technique analytique couplée, l'EC-ICPMS, a alors été nécessaire. Le quatrième chapitre, après un rappel des principales équations de la thermodynamique des solutions aqueuses, est consacré à la présentation de la méthode d'affinité, permettant la détermination de constantes de complexation d'un système labile par EC-ICPMS. Les concepts permettant d'établir la stabilité d'un complexe et le calcul de l'isotherme de complexation sont mentionnés. L'originalité de ce travail de thèse réside d'abord dans l'amélioration de la méthode d'affinité : d'une part, la méthode est étendue à l'étude de la complexation multiple (plusieurs molécules de ligand pour un seul ion métallique), et d'autre part, une plus grande liberté est permise pour le choix du système d'étude puisque les analyses sont réalisées à pH et force ionique fixes. Ce travail met en outre l'accent sur le choix des conditions analytiques. Il permet de comparer les différentes méthodes de traitement mathématique des résultats expérimentaux, pondérées ou non, linéaires ou non, et établit les formules permettant de calculer de manière précise les écarts-types associés aux données thermodynamiques de complexation. Une attention particulière est portée à la correction des constantes de complexation apparentes obtenues, la force ionique mais aussi l'ionisation du ligand ont été prises en compte dans les calculs. Les constantes de complexation à dilution infinie ainsi obtenues peuvent alors être comparées aux données de la littérature.

Cette méthode a ensuite été appliquée aux systèmes lanthane-oxalate et uranyle-oxalate et les résultats obtenus ont fait l'objet de deux publications scientifiques, dont le texte en anglais figure dans ce mémoire. Il est intéressant de noter que la méthode d'étude des complexes labiles par EC-ICPMS fournit également les valeurs des mobilités électrophorétiques du système métal-ligand. Celles-ci peuvent de même être calculées dans les conditions de dilution infinie, ce qui a été réalisé pour les systèmes lanthane-oxalate et uranyle-oxalate. En outre, une nouvelle série d'expériences a été effectuée pour déterminer les mobilités électrophorétiques absolues des acides organiques étudiés au cours de cette thèse. En guise de conclusion du quatrième chapitre, et pour illustrer les apports des techniques analytiques couplées à l'étude de la spéciation de l'uranium en conditions naturelles, des diagrammes de spéciation ont été bâtis en prenant en compte les constantes de complexation déterminées par la méthode développée dans cette étude. Ceux-ci prouvent clairement que le choix des données thermodynamiques est crucial pour la fiabilité d'un modèle biogéochimique et que les constantes de complexation déterminées dans cette thèse permettent une meilleure prédiction des valeurs de solubilité de l'uranium dans des eaux naturelles.

La cinquième partie du mémoire est consacrée à la conclusion générale et aux perspectives de ce travail, tandis que le sixième chapitre regroupe les annexes, c'est-à-dire toutes les précisions qu'il a été jugé utile de faire figurer, sans pour autant encombrer le corps du mémoire : il s'agit des généralités sur la chimie de l'uranium, de la description de l'instrumentation et des techniques analytiques employées, des chromatogrammes correspondant à la séparation des acides organiques par LC ; ainsi que des expérimentations visant à l'optimisation du couplage EC-ICPMS et de l'étude succincte de la complexation de l'uranium par le sidérophore desferrioxamine B.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

I.1. La spéciation

I.1.1. Définition du concept de spéciation

La spéciation d'un élément est un terme décrivant la répartition de cet élément entre ses différentes formes chimiques (complexées, adsorbées, rédox...) dans un système réel [6]. En effet, il est communément admis que la biogéochimie (toxicité, mobilité, biodisponibilité, etc...), est intrinsèquement dépendante des formes chimiques sous lesquelles se trouve cet élément. Il s'ensuit qu'une simple quantification élémentaire est insuffisante pour la caractérisation des systèmes naturels ou complexes [7,8]. L'analyse de la spéciation se révèle donc d'une importance cruciale pour la compréhension du comportement environnemental et biologique d'éléments d'intérêts, tels que ceux présentant une forte toxicité : Al, As, Bi, Cr, Cd, Hg, I, Pb, Sn, Se, Tl... [9]

I.1.2. Challenges de l'analyse de la spéciation

Ces dernières années, l'analyse de spéciation est devenue un enjeu majeur, principalement à cause de certaines difficultés qui limitent l'étude de la spéciation des systèmes complexes à quelques éléments seulement.

D'abord, il est nécessaire de développer des techniques analytiques, comprenant la préparation d'échantillons et leur analyse, permettant de respecter les formes physico-chimiques initialement présentes en solution [6]. Les méthodes analytiques traditionnelles nécessitent généralement de purifier l'échantillon, afin de faciliter l'analyse élémentaire. Ceci peut être obtenu en restreignant le nombre de formes chimiques sous lesquelles se trouvent les éléments. La modification des propriétés chimiques d'un échantillon (pH, force ionique, E_h , présence de solvants et/ou d'extractants ...) a pour effet de perturber l'équilibre établi dans le milieu complexe. Les techniques analytiques actuelles doivent donc limiter les étapes de préparation d'échantillon, réaliser l'analyse directement dans la matrice réelle quand cela est possible (par exemple, les étapes de préconcentration doivent être prohibées) et permettre la séparation et l'identification des différents composés d'un élément.

Ensuite, l'analyse de spéciation se confronte au fait que les formes chimiques des éléments d'intérêt sont souvent présentes sous forme de traces [9,10], c'est-à-dire à des concentrations plus faibles que les limites de détection des techniques d'analyse classiques (chromatographie gazeuse ou liquide, spectrométrie atomique). Cette problématique se rencontre fréquemment dans les domaines environnementaux et biologiques. De nouvelles techniques analytiques (décrites au paragraphe I.1.3) sont donc développées pour diminuer les limites de détection [11].

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

D'autre part, le développement de la chimie analytique est nécessaire pour étudier les phénomènes cinétiques, ainsi que les propriétés biogéochimiques d'un élément hors équilibre. Par exemple, l'étude de la migration de polluants métalliques dans les sols requiert la construction de modèles complexes, couplant le transport des espèces et leurs réactions biogéochimiques (complexation, oxydoréduction, adsorption, absorption par la biomasse, précipitation, dissolution...). La fiabilité de ces modèles est extrêmement dépendante des données thermodynamiques et cinétiques employées, c'est pourquoi des constantes doivent être déterminées par l'expérience avec la plus grande précision. En outre, certaines espèces chimiques, dites labiles, ont tendance à se dissocier en cours d'analyse [2,5], ce qui rend ces espèces difficiles identifiables.

Enfin, le dernier challenge de la spéciation réside dans l'identification d'espèces inconnues au sein d'un système naturel [8,12]. A titre d'exemple, on peut citer le cas de la spéciation du mercure dans les milieux environnementaux : on considère généralement qu'il se répartit entre deux formes ioniques: Hg^+ et CH_3Hg^+ ; or, ces formes ionisées peuvent ensuite se complexer avec acides aminés, former des liaisons covalentes avec un contre-ion, ou se complexer fortement avec les protéines par l'intermédiaire des cystéines [6]. L'éventail des possibilités est très large, d'autant que généralement les espèces concernées sont peu courantes et malheureusement, on ne dispose pas toujours de standards permettant d'identifier les espèces inconnues avec certitude. La compréhension de la spéciation nécessite donc de corréler entre elles de multiples expérimentations, afin d'attester la formation de nouvelles espèces chimiques.

I.1.3. Méthodes analytiques d'étude de la spéciation

L'étude de la spéciation requiert une technique analytique complexe, permettant la séparation et l'identification des espèces chimiques d'un élément, présent à l'état de traces, sans perturber leur distribution. Généralement, ces critères sont remplis par le couplage d'une technique séparative de haute efficacité (chromatographie liquide [2] ou électrophorèse capillaire [3-5]) à un détecteur de grande sensibilité, c'est-à-dire disposant de faibles limites de détection (spectromètre de masse). L'ICPMS permet de faire de l'analyse élémentaire avec une très bonne sensibilité, tandis que le principal avantage de l'ESMS est de pouvoir identifier les molécules détectées, quoique ses limites de détection soient généralement plus élevées.

D'autres techniques d'analyse directe de la spéciation sont disponibles pour des gammes de concentrations plus élevées (figure 1). Il s'agit de la spectrométrie Raman, de la RMN, de la spectrophotométrie UV/vis., de la spectroscopie d'absorption des rayons X...

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

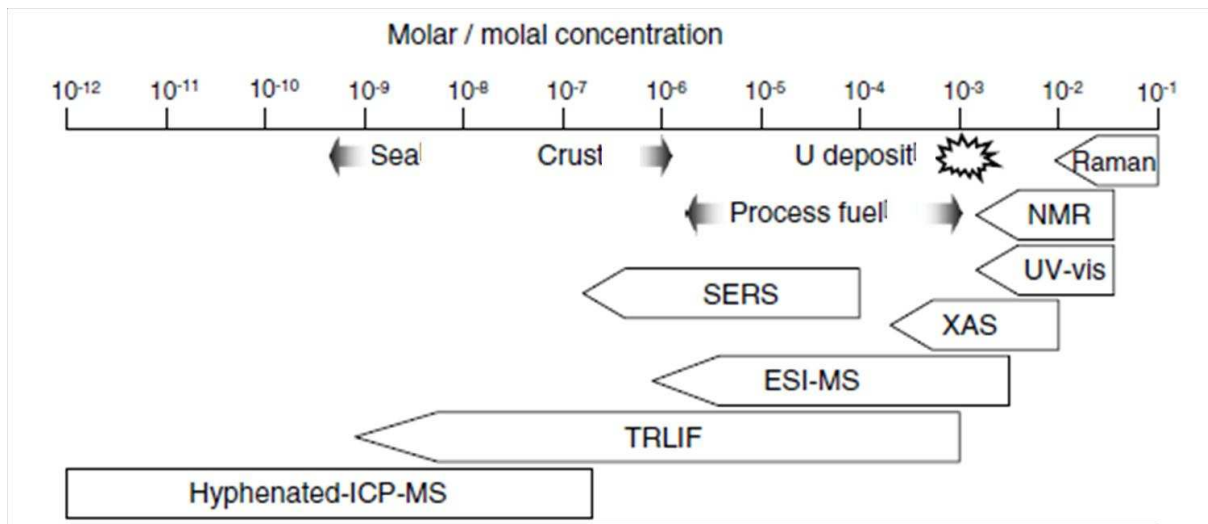


Figure 1 : Techniques analytiques disponibles pour l'analyse de la spéciation de l'uranium [11].

I.2. La spéciation des radionucléides dans l'environnement

I.2.1. Le contexte du stockage géologique

Le contexte du stockage géologique de matières nucléaires ouvre de nouvelles perspectives de recherche en ce qui concerne la possible migration des radionucléides du fût de stockage vers la géosphère, ainsi que leur impact et leur devenir dans les milieux environnementaux et biologiques [11]. Les études sont axées principalement autour de quelques éléments, dont les actinides Th, U, Np, Pu et Am (qui sont globalement composés d'isotopes à vie longue).

La migration de ces radioéléments s'effectue principalement par solubilisation et diffusion dans les eaux porales, ce qui signifie qu'une bonne compréhension de la biogéochimie des radionucléides est absolument nécessaire dans le choix d'un site de stockage. En effet, les différents phénomènes physico-chimiques mis en œuvre dans les sols (complexation, oxydoréduction, adsorption, absorption par la biomasse, précipitation, dissolution...) jouent des rôles variables dans le temps, à l'échelle des temps géologiques. Ces phénomènes sont en outre dépendants de la composition de la roche mère (déterminante pour la nature des ligands inorganiques et des phases colloïdales disponibles) ainsi que de la présence de ligands organiques co-stockés avec les radionucléides, comme l'EDTA ou l'acide nitriloacétique, qui accroissent significativement leur mobilité.

La connaissance de la spéciation chimique de radionucléides à vie longue dans l'environnement permet de prédire avec plus de fiabilité leur comportement dans l'environnement et de renforcer la précision des modèles géochimiques. Le challenge analytique se situe donc dans le développement de techniques directes d'analyse de la

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

spéciation, permettant l'acquisition de données quantitatives concernant les formes chimiques des radionucléides présents dans une matrice environnementale.

I.2.2. Quelques études menées précédemment au CEA

Le CEA s'intéresse énormément aux thématiques de stockage géologique, en particulier dans les domaines de la spéciation des radionucléides et le choix des sites de stockage. C'est pourquoi de nombreuses thèses sont menées pour approfondir la connaissance du devenir des radionucléides dans la géosphère. L'impact des radionucléides sur la santé ainsi que les procédés de décontamination constituent aussi des sujets de première importance, puisqu'il s'agit de la sécurité des personnes.

D'abord, les propriétés chimiques des lanthanides constituent un sujet d'intérêt car il existe une très bonne analogie chimique entre les lanthanides(III) et l'américium(III) ou le curium(III) [13], ces derniers étant des sous-produits obtenus lors de la fission nucléaire. Ainsi, Violaine Phillipini [13] a fait apparaître un changement de stœchiométrie des complexes limites de lanthanides(III) avec les carbonates ; Thomas Vercoeur [14] a étudié la complexation des lanthanides et actinides à l'état d'oxydation +III avec les carbonates et les sulfates ; et Cyrille Alliot [15] s'est penché sur l'étude de la sorption de l'américium(III), du curium(III) et de l'uranium(VI) sur l' α -alumine en présence de complexants organiques simples.

D'autre part, la spéciation de métaux ou de radionucléides dans des milieux biologiques a été étudiée par Valérie Lourenço [16] (spéciation d'euprotium(III) et d'uranium(VI) en présence de ligands d'intérêt biologique) et Denis Pombet [17] (étude par LC-ICPMS de la complexation du cobalt(II) avec l'EDTA et avec un tripeptide, le glutathion).

Enfin, plusieurs thèses se sont intéressées au comportement des actinides dans l'environnement et c'est dans ce cadre que s'inscrit la présente thèse : Arnaud Delorme [18] et Chrystel Ambard [10] ont développé le couplage EC-ICPMS [19] pour l'appliquer à l'étude de la géochimie du plutonium sous ses différents états d'oxydoréduction, de sa complexation avec les ligands chélatants comme l'EDTA et de la complexation uranyle-sulfate et neptunyle-carbonate. Finalement, la thèse de Vannapha Phrommavanh [1] a porté sur l'étude de la biogéochimie de l'uranium dans les sols de tourbe du site du Bouchet, et elle a mis en évidence le rôle non négligeable des petits acides organiques naturels dans la spéciation de l'uranium (complexation avec les oxalates, précipitation sous forme d'uraninite ou coprécipitation avec le carbonate de calcium...).

Ainsi, la présente thèse a été conçue pour préciser le comportement de l'uranium en présence d'acides organiques simples naturels grâce à l'emploi de techniques analytiques couplées (LC-ICPMS et EC-ICPMS). Le but était aussi de préciser les valeurs de certaines données de complexation de l'uranium car la thèse de Vannapha

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Phrommavanh a mis en évidence certaines incohérences dans les modèles géochimiques utilisant les bases de données thermodynamiques classiques (Minteq...).

I.3. Biogéochimie de l'uranium [16]

Cette partie traite du comportement de l'uranium en conditions environnementales. Un rappel des principales propriétés chimiques de l'uranium est effectué en annexe VI.1 : les propriétés physiques, nucléaires, les états d'oxydation principaux, le comportement des ions uranium vis-à-vis de l'hydrolyse y sont rappelés. Le choix du système d'étude a été opéré grâce aux considérations réalisées dans ce chapitre. La complexation avec les petits acides organiques d'origine naturelle y est donc détaillée avec une attention particulière.

On trouve cet élément à l'état de traces dans la croûte terrestre (en moyenne, 2 ppm), mais aussi en très faible concentration dans l'eau de mer : 3 ppb. L'uranium naturel est présent dans différents types de minéraux tels que l'uraninite UO_2 ou la pechblende, de formule chimique variant de UO_2 à $\text{UO}_{2,67}$, la carnotite $\text{K}_2(\text{UO}_2)_2(\text{VO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ou l'autunite $\text{Ca}(\text{UO}_2)_2(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ avec $n = 8 - 12$.

La lixiviation des minéraux uranifères par les eaux d'infiltration solubilise l'uranium à des concentrations de l'ordre du ppb, en particulier grâce à l'action de la dégradation bactérienne et à la complexation par la matière organique en solution. La teneur en uranium dans les eaux de sol est généralement inférieure à 50 ppb, mais certaines eaux peuvent exceptionnellement atteindre le dixième de ppm.

La spéciation de l'uranium dans les eaux naturelles est la conséquence de différents phénomènes physico-chimiques [20-22] :

- l'hydrolyse, contrôlée par le pH,
- l'état d'oxydation imposé par le potentiel rédox E_h ,
- la complexation par des ligands organiques ou inorganiques,
- l'adsorption sur les surfaces minérales ou sur les colloïdes humiques,
- l'échange d'ion sur certaines argiles,
- la précipitation d' U(IV) , etc.

En outre, d'autres facteurs tels que la force ionique, l'activité des cations compétiteurs (Ca^{2+}), la teneur en eau du sol, la composition organique et minérale, la flore bactérienne interviennent plus ou moins directement sur la solubilité de l'uranium et a fortiori sur sa spéciation. Les différentes interactions de l'uranium avec l'environnement sont détaillées dans la suite de ce chapitre.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

I.3.1. Etats d'oxydation de l'uranium dans l'environnement

Les états d'oxydation de l'uranium stables dans l'environnement sont l'U(VI) et l'U(IV) [20]. Généralement, il est admis que les eaux réductrices favorisent la prédominance de l'état tétravalent (en absence d'oxygène), tandis qu'en conditions oxydantes, l'uranium existe principalement sous la forme hexavalente : l'ion uranyle UO_2^{2+} .

Le comportement (bio)géochimique de l'uranium, couplé au transport solide (érosion hydrique puis sédimentation) et au transport en phase liquide des formes dissoutes et colloïdales, mène à l'existence de zones d'accumulation dans les sols et les sédiments suivant les conditions rédox. Ces zones d'accumulation de l'uranium sont ainsi, en conditions oxydantes, les horizons riches en matières organiques et les oxyhydroxydes de fer ; et en conditions réductrices, les sols inondés ou les sédiments. Au vu des propriétés intrinsèques et géochimiques de l'uranium, on peut prédire que le transport de l'uranium se fait dans les zones à E_h élevé (l'U(VI) ayant une bonne solubilité), et que l'uranium en solution est réduit à l'état tétravalent et précipité dans les zones à E_h faible. Finalement, le comportement biogéochimique de l'uranium est tel qu'il se retrouve à 80 - 90% sous forme d'U(VI) dans les sols [23]. En effet, les sols sont principalement des milieux oxydants (présence d'air ou de matières organiques...), ce qui favorise la présence d'U(VI).

I.3.2. Complexation de l'uranium par les anions inorganiques

Dans la gamme de pH des eaux porales (autour de pH = 6 - 7), nous avons vu que l'ion uranyle UO_2^{2+} a une tendance marquée à l'hydrolyse, et de ce fait, les complexes hydroxydes de l'ion uranyle sont généralement présents de manière significative dans l'eau porale.

Dans les eaux de sol, de nombreux complexes de l'ion uranyle avec des anions inorganiques sont cités par la littérature : CO_3^{2-} , HO^- , SiO_4^{4-} , SO_4^{2-} , F^- [21,24,25]. La spéciation de l'uranium dans les eaux de sol dépend principalement des conditions de pH, d'oxydoréduction, ainsi que de la nature et de la concentration des ligands inorganiques présents et, le plus souvent, les complexes avec les anions inorganiques sont prépondérants dans les eaux naturelles. Ceci s'explique par les importantes concentrations d'anions inorganiques dans les eaux naturelles (issues de la dissolution du CO_2 atmosphérique ou des minéraux du sol) et par l'affinité de ces petits anions pour les espèces multichargées. Il a ainsi été observé [23] que l'ion uranyle non complexé est l'espèce majoritaire dans un environnement acide et réducteur, tandis qu'à pH neutre, on trouve principalement les espèces hydrolysées UO_2OH^+ , $(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$, $(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_5^+$ et $(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_7$, mais aussi les phosphates d'uranyle UO_2HPO_4 et $\text{UO}_2(\text{HPO}_4)_2^{2-}$. Dans les eaux naturelles basiques, les espèces carbonatées UO_2CO_3 , $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$, $\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$ contrôlent la spéciation de l'uranium. Ce phénomène s'explique par le fait que les

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

phosphates et les carbonates sont des espèces acido-basiques, dont la protonation est fonction du pH. Généralement, les phosphates d'uranyle sont plutôt insolubles, ce qui immobilise l'uranium complexé.

I.3.3. Complexation de l'ion uranyle par la matière organique du sol

La fraction de matière organique est importante dans les sols, et grâce à l'action de la dégradation microbienne, dont les responsables sont les bactéries et les champignons, la teneur en composés organiques dissouts dans les eaux porales est très élevée, jusqu'à $C \approx 30 - 400$ ppm dans les eaux de tourbe. Ce phénomène porte le nom de « tea-bag theory » [26]. Ces concentrations élevées permettent aux composés organiques dissouts de jouer un rôle très important de complexation et de transport des cations dans les sols [27,28].

Le carbone organique dissout se trouve sous différentes formes dans les eaux naturelles : acides aminés, petits acides organiques hydrophiles mono-, di- ou tricarboxyliques tels que les acides acétique, propionique ou butyrique, mais aussi alcools, cétones, aldéhydes, méthane CH_4 ou dioxyde de carbone CO_2 , tous issus du métabolisme bactérien, ainsi que les acides humiques et fulviques, qui sont des sortes de biopolymères des molécules précédentes et constituent environ 90% de la matière organique du sol [25]. D'autres biopolymères font aussi partie de la matière organique dissoute : les protéines, les lipides et les glucides.

Selon toute logique, la concentration en carbone organique dissout décroît avec la profondeur, puisqu'elle est issue de la biodégradation des végétaux morts amoncelés en surface, mais elle augmente quand la température ou le degré d'hygrométrie augmentent [29]. De même lorsque le pH augmente, les molécules organiques et les groupements de surface des minéraux s'ionisent généralement davantage, ce qui accentue la répulsion électrostatique et donc la concentration en composés organiques dissouts augmente [30].

I.3.3.1. Complexation de l'ion uranyle par les substances humiques

I.3.3.1.1. GENERALITES SUR LES SUBSTANCES HUMIQUES

L'humus est un résidu noirâtre provenant de la décomposition des déchets organiques et des cadavres végétaux (et, dans une moindre mesure, animaux) par des organismes détritivores : bactéries, champignons, actinomycètes, arthropodes, lombrics et larves d'insectes. La décomposition de l'humus libère de l'azote et d'autres éléments nutritifs indispensables à la croissance des végétaux alentour.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Les principaux composés de l'humus sont les acides humiques et fulviques, que l'on regroupe sous le terme générique de substances humiques. Ce sont des biopolymères formés par réticulation de petites molécules organiques naturelles comme les acides aminés, les sucres, les acides carboxyliques et autres résidus de dégradation des biomolécules plus complexes (cellulose et hémicelluloses, pectines, lignines, chlorophylle, protéines, acides nucléiques...). L'interaction entre oligo- et monomères aboutit à des polymères colorés sombres qui sont les précurseurs des molécules humiques. Les monosaccharides s'associent aux acides aminés puis polymérisent en substances sombres, les mélanoidines. Les phénols provenant de la lignine et des pigments cellulaires s'oxydent en quinones puis polymérisent en polyphénols, avec une cinétique particulièrement rapide en sols carbonatés. Ces différentes réactions mènent à des macromolécules organiques constituées principalement de noyaux aromatiques polymérisés liés par des chaînes aliphatiques. Cette structure chimique leur confère des propriétés particulières : les substances humiques forment des colloïdes par connexion des macromolécules organiques en un immense réseau. Ces colloïdes ont un comportement structural dépendant des conditions du milieu : à pH bas ou à force ionique élevée, les substances humiques sont en conformation globulaire, tandis qu'en solution diluée, ils forment de longs polymères linéaires et flexibles [31,32].

Il résulte de leur mécanisme de formation que les principaux groupements fonctionnels des substances humiques sont à base d'oxygène [32] : groupements carboxyliques ($-\text{COOH}$), hydroxyles ($-\text{OH}$), phénoliques ($-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$) ou carbonyles ($-\text{C=O}$) ; mais on trouve aussi quelques fonctions azotées ou soufrées. Leur masse moléculaire croît avec le degré de polymérisation : entre 0,5 et 2 kDa pour les acides fulviques, entre 1 et 10 kDa pour les acides humiques et entre 5 et 200 kDa pour l'humine [25]. Le diagramme suivant (figure 2) présente l'évolution des caractéristiques des substances humiques avec l'augmentation de la masse moléculaire.

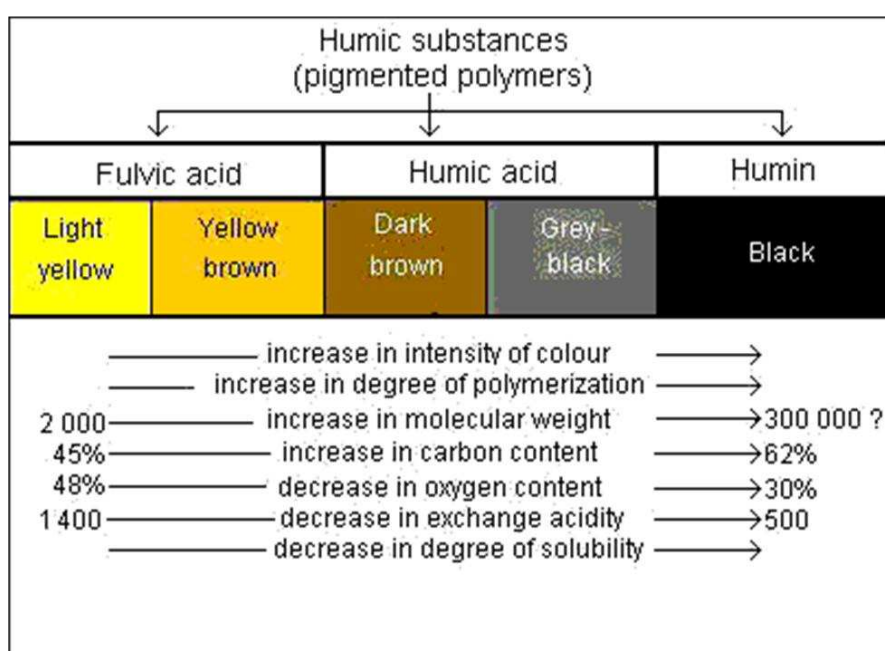


Figure 2 : Caractéristiques des substances humiques en fonction de la masse moléculaire.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

La figure 2 indique que les acides fulviques contiennent plus de fonctions carboxyliques que les acides humiques, ce qui explique que les constantes de complexation [33] entre l'uranium et les acides fulviques sont légèrement plus élevées que celles correspondant à la complexation avec les acides humiques. En effet, les fonctions carboxyliques sont les principaux sites de complexation de cations pour les la matière organiques. Etant donné que le ratio FA/HA diminue quand le pH du sol augmente [30], le type de complexes formés (avec les acides fulviques ou humiques) dépendra du pH de l'eau naturelle et de l'activité des cations compétiteurs ou initialement liés avec les substances humiques. En effet, les substances humiques naturelles contiennent entre 5 et 10% d'éléments inorganiques : Al, Ca, Fe, mais aussi Zr, Th ou U [34]. Les associations entre l'uranium et les substances humiques font partie des complexes de l'ion uranyle les plus fréquents dans la nature.

I.3.3.1.2. INTERACTIONS ENTRE L'ION URANYLE ET LES SUBSTANCES HUMIQUES

La littérature recense plusieurs types d'interactions entre les substances humiques et l'ion uranyle, mais les données ne sont pas toujours cohérentes entre elles. La complexation de l'ion uranyle par les substances humiques intervient à plusieurs niveaux dans le transport de celui-ci : en effet, ces complexes sont généralement solubles [33] et donc la chélation par les substances humiques serait un moyen de transporter l'ion uranyle dans l'eau de sol et de le soustraire à la complexation par d'autres molécules ou à la réduction par les enzymes bactériennes (les substances humiques étant elles-mêmes résistantes à la dégradation microbienne). En outre, les complexes entre l'uranium et les substances humiques sont négativement chargés, tout comme les particules du sol, ce qui se traduit par un transport accéléré du complexe grâce à un processus naturel d'exclusion stérique [34]. L'impact de la complexation par les substances humiques est plus intense à pH moyennement acide : les complexes humiques y sont prépondérants ; tandis qu'à pH neutre et alcalin, ce sont les complexes carbonatés qui prédominent [33,34].

Toutefois, d'autres auteurs [25,35] signalent que la complexation de petits cations par les substances humiques conduit à des édifices métallo-organiques de plus grande taille et donc plus insolubles, ce qui participerait à l'immobilisation de certains cations. Ce phénomène se traduit vraisemblablement par le fait que les colloïdes humiques (formés par agrégation des substances humiques) ont un fort pouvoir de rétention de cations : le facteur d'enrichissement des substances humiques est de 10^4 [25] voire 10^5 pour les substances humiques de tourbières [33]. On trouve néanmoins une publication qui montre que l'uranium VI se lie préférentiellement avec les substances humiques de plus faible masse [36].

Un autre phénomène joue un rôle important dans la spéciation de l'uranium : l'adsorption des acides fulviques sur les surfaces minérales [29]. Strobel note que ce phénomène est dû à la complexation des cations de surface, et ceci a pour conséquence

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

un effet d'écran face à la dissolution minérale. De ce fait, la concentration en phosphates, provenant de minéraux très insolubles, sera faible dans les eaux contenant beaucoup d'acides fulviques, ce qui impactera la spéciation de l'uranium, pour lequel les phosphates sont un des meilleurs ligands naturels.

Enfin, plusieurs études rapportent que les substances humiques ne réduisent pas l'ion UO_2^{2+} dans les conditions environnementales [25,33].

I.3.3.2. Complexation de l'ion uranyle par les acides organiques dans l'environnement

La matière organique ne se réduit évidemment pas aux seuls acides humiques et fulviques macropolymères de « petites » molécules organiques (que l'on nomme généralement en anglais LMWC pour « Low Molecular Weight Compounds »). Cette classe de composés regroupe différentes natures de molécules, toutes d'origine biologique : les monosaccharides, les acides aminés, les acides carboxyliques, les acides gras, les cires, les résines, les pigments... Dans le cadre de cette étude, nous nous intéressons plus particulièrement à l'impact des acides organiques de faible masse (i.e. hydrophiles) sur la spéciation de l'uranium, pour différentes raisons qui seront détaillées dans la suite de ce chapitre.

Les acides organiques de faible masse sont produits lors de la dégradation de la matière organique des sols, par exemple lorsque la litière (couche de débris végétaux pas ou très peu décomposée : feuilles mortes, fragments d'écorce...) ou les racines mortes sont dégradées par les champignons et les bactéries. Ces acides carboxyliques peuvent aussi être produits par les racines de certaines plantes – comme les sidérophores [37] dans une stratégie d'acquisition du fer - ou par les champignons [38]. Ils sont rapidement dégradés par la flore microbienne du sol : leur temps de demi-vie est compris entre 0,5 h et 12 h [29].

Strobel définit les acides organiques de faible masse comme les acides carboxyliques de masse moléculaire inférieure à 300 Da. Selon la nature du sol et de la végétation, les acides organiques hydrophiles représentent jusqu'à 10 % de la matière organique totale (< 10 % [29], 2 – 10 % [38], 1 – 3 % [39], 0,5 – 5 % [40]), c'est-à-dire une concentration maximale de l'ordre du millimolaire (entre $1 \mu\text{mol.L}^{-1}$ et 2mmol.L^{-1} selon Strobel [29]). Néanmoins, leur petite taille leur confère un rôle important dans l'acidité des sols : en effet, les acides organiques majoritaires comme les acides citrique, fumarique et acétique possèdent un groupe carboxylique $-\text{COOH}$ pour deux atomes de carbones, tandis que dans les eaux de sol le ratio est en moyenne de 1 $-\text{COOH}$ pour 9,5 atomes de carbone. A ce titre, les petits acides carboxyliques sont responsables de 0,5 à 15 % de l'acidité des eaux de sol [40].

Les acides organiques les plus courants sont les acides carboxyliques aliphatiques, comportant éventuellement un carbone insaturé ou un groupe hydroxyle. Les acides mono-carboxyliques sont présents en plus grande concentration ($\sim 1 \text{mmol.L}^{-1}$

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

¹⁾ que les acides di- et tri-carboxyliques ($< 50 \mu\text{mol.L}^{-1}$) [29], tandis que ces derniers ont de meilleures constantes de complexation des cations [25], si bien que le rôle des différentes familles d'acides carboxyliques dans la complexation organique de l'uranium est vraisemblablement comparable. Certains de ces composés interviennent directement dans le métabolisme bactérien, ce qui explique leur présence dans de nombreux milieux [29] à des concentrations de l'ordre de 10 à 1000 $\mu\text{mol.L}^{-1}$: ainsi, les acides citrique, aconitique, succinique, fumarique et malique forment le cycle biochimique de l'acide citrique, nommé le cycle de Krebs. Les autres acides majoritairement présents dans les sols sont les acides oxalique, formique, acétique, malonique, maléique et lactique. Les formules chimiques de ces différents acides aliphatiques sont données dans la figure 3 :

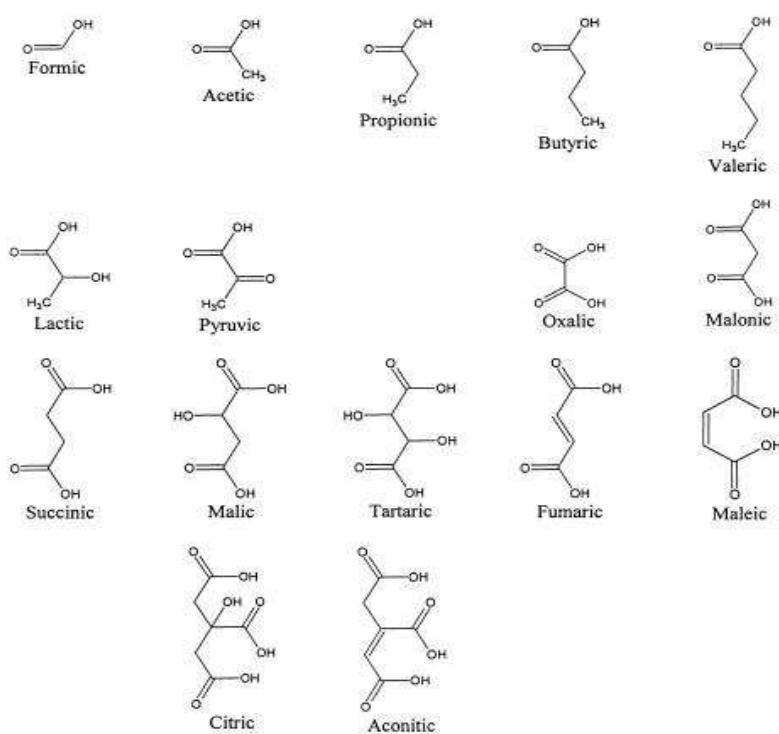


Figure 3 : Formules chimiques des principaux acides carboxyliques rencontrés dans les sols [29].

La plupart des acides aromatiques trouvés dans les sols sont des acides benzoïques et cinnamiques, dont les hydrogènes du noyau aromatique peuvent être substitués par des groupements hydroxyle et/ou méthoxyle ($-\text{OCH}_3$). Ce sont probablement des métabolites secondaires, produits par les racines des plantes ou par certains microorganismes : leur concentration dans les eaux naturelles n'excède pas le micromolaire [29]. Les formules chimiques des principaux composés de ces deux familles sont répertoriées dans la figure 4 :

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

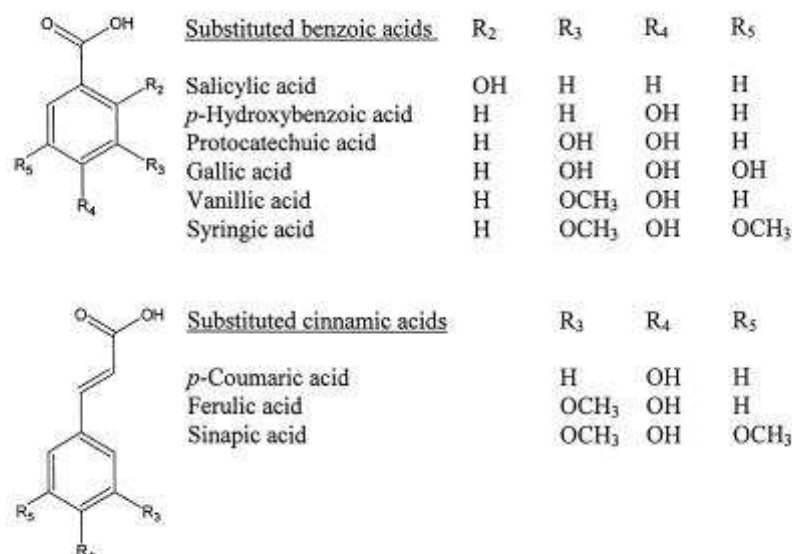


Figure 4 : Formules chimiques des acides benzoïques et cinnamiques, éventuellement substitués [29].

Les acides organiques identifiés dans cette étude ont trois principales gammes de pK_A : 2,5 - 3, 3 - 3,5 et 5,5 - 6 (cf tableau 1). En considérant dans leurs modèles que les acides organiques de sols podzolisés sont des monoacides, de nombreuses études situent le pK_A moyen des groupements carboxyliques autour de 4 à 4,5 [29]. De ce fait, ils jouent un rôle non négligeable dans la capacité tampon des sols acides.

Acide carboxylique	pK _{A1}	pK _{A2}	pK _{A3}
oxalique	1,25	4,26	///
succinique	4,20	5,36	///
fumarique	3,02	4,48	///
tartrique	3,04	4,37	///
citrique	3,13	4,76	6,40
formique	3,75	///	///
acétique	4,76	///	///
lactique	3,86	///	///

Tableau 1 : pK_A de quelques acides carboxyliques rencontrés dans les sols ; valeurs extraites de la référence [29].

Les acides organiques agissent comme des ligands pour les cations libres en solution, mais ils facilitent aussi la dissolution minérale en s'adsorbant à la surface des minéraux puis en se détachant sous forme de complexes métallo-organiques. On peut citer en exemple le phénomène de dissolution réductive des oxydes de fer [39] [29], ou encore leur impact dans l'adsorption et la mobilité d'anions inorganiques tels que les sulfates ou les phosphates [41]. D'autres études suggèrent en outre que leur présence ralentit la formation de minéraux cristallins, via la complexation de surface. Les petits

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

acides organiques jouent d'autre part un rôle important dans la biodisponibilité des nutriments, en particulier à la surface des racines de plantes.

Dans de nombreux systèmes géologiques, il est généralement suffisant de considérer les complexes entre l'uranium et les acides organiques de stœchiométrie 1-1 et 1-2 pour l'étude de la spéciation de l'uranium [27], les complexes d'ordre supérieur se formant à des concentrations en acides organiques plus élevées (en effet, la concentration en uranium dans les eaux naturelles est souvent trop faible pour permettre la formation des complexes polynucléaires). Dans les eaux de sol, le transport de cations et de la matière organique se fait principalement sous forme de complexes métallo-organiques, qui ont quelquefois la propriété d'être bio- ou photodégradable. Par exemple, la littérature reporte que le complexe 2-2 uranyle-citrate est photodégradable et donne lieu à la précipitation de l'oxyde UO_3 ainsi qu'à la formation d'acide acétique et de CO_2 [42]. D'autre part, les complexes UO_2^{2+} - citrate sont biodégradables en conditions alcalines [43]. On reporte aussi que le complexe de bioxalate d'uranyle est photoactivable et conduit à la formation d'acide formique [44].

Notons enfin que les acides aminés ou les sucres de petite taille peuvent jouer des rôles semblables en matière de complexation de cations, mais ne seront pas étudiés dans le cadre de cette thèse.

I.3.4. Interactions entre l'uranium et la biosphère

Les sols de tourbe sont des milieux riches en bactéries, notamment sulfato-réductrices. Cette activité bactérienne influence directement la composition chimique de l'eau ainsi que les conditions d'oxydoréduction, ce qui a une incidence importante sur le comportement géochimique de l'uranium présent, et en particulier sur sa solubilité. L'uranium naturel a une radiotoxicité limitée, mais il est néanmoins un élément toxique pour les organismes. Il interfère en particulier avec les cycles biologiques du fer et du calcium. Toutefois, certaines bactéries sont capables de croître dans une eau contenant de l'uranium à la concentration élevée de 8 mmol.L^{-1} [45].

En effet, des études indiquent que certaines bactéries communes dans les sols peuvent, grâce à l'action d'enzymes, réduire l'uranium (VI) en uranium (IV) en l'absence d'oxygène. L'uranium (VI) joue alors le rôle d'accepteur d'électron à la place d'autres éléments comme le fer (III), le manganèse (II), les nitrates ou les sulfates selon le type de bactéries. L'uranium (VI) est réduit en uraninite UO_2 , minéral relativement insoluble, ce qui a pour effet d'immobiliser l'uranium sur une grande échelle de temps. Cette réduction est couplée à l'oxydation de composés organiques comme l'acétate ou le dihydrogène.

Les bactéries qui effectuent la réduction de l'U(VI) appartiennent à différentes familles : les DMRB (Dissimilatory Metal-Reducing Bacteria), telles que *Geobacter*

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

metallireducens, *Shewanella putrefaciens*, GS-15 et *Shewanella alga*, mais aussi les bactéries sulfato-réductrices, comme *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris*, *Desulfovibrio baculatum* et *Desulfohalobium* *reducens*, ou les bactéries dénitrifiantes (c'est-à-dire qui transforment NO_3^- en N_2) *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas stutzeri* [46-49].

Plusieurs auteurs ont montré que la réduction enzymatique de l'uranium était fortement dépendante de la nature du milieu (et plus particulièrement, de la présence d'anions complexants) ce qui s'explique par le fait que les réactions microbiennes sont séquentielles dans le sens des intensités rédox décroissantes [50], elles-mêmes directement influencées par la complexation. Ainsi, la présence de grandes concentrations de bicarbonates, de sulfates ou de nitrates constitue un frein à la réduction enzymatique de l'U(VI), parce que le complexe entre ion uranyle et anion inorganique est structurellement incompatible avec le site actif de l'enzyme et avec son transport à travers les membranes lipidiques. A ce titre, des chercheurs ont montré que la réduction de l'U(VI) par les bactéries sulfato-réductrices est inhibée par 100 mmol.L⁻¹ de bicarbonates HCO_3^- , mais pas par 100 mmol.L⁻¹ de carbonates CO_3^{2-} , tandis qu'elle est favorisée en présence de sulfates SO_4^{2-} dans la gamme de concentrations de l'étude [48]. En revanche, les molécules organiques aliphatiques ne joueraient aucun rôle dans la cinétique de réduction de l'uranium [51].

Il existe un moyen indirect par lequel les bactéries sulfato-réductrices peuvent transformer l'uranium (VI) en uranium (IV) : la production de sulfures. En effet, le métabolisme principal des bactéries sulfato-réductrices est l'oxydation de la matière organique concomitante avec la réduction des sulfates S(+VI) en sulfures S(-II). Si l'environnement est suffisamment réducteur, il peut y avoir réduction de l'uranium (VI) par les sulfures microbiens. Ce phénomène est très difficile à observer, puisque la forte complexation par les carbonates et les bicarbonates – présents à des concentrations élevées dans les eaux de surface – soustrait l'uranium à l'action réductrice des sulfures [45,48,52].

Enfin, le compartiment microbien interagit avec l'uranium en solution par une dernière voie : la biosorption. L'acquisition de l'uranium par les microorganismes est contrôlée par la concentration en ion uranyle UO_2^{2+} , puisque c'est la seule espèce de l'uranium capable de traverser les membranes biologiques. Plus généralement, l'ion métallique non complexé d'un élément donné fournit la meilleure indication de biodisponibilité et a fortiori de toxicité [21]. La complexation par la matière organique crée un effet d'écran qui limite la disponibilité du cation vis-à-vis des microorganismes. La capacité de fixation de l'uranium par les microorganismes cellulaires atteint 10^4 à 10^5 fois sa concentration dans l'eau de sol. La bioaccumulation de l'uranium est plutôt peu dépendante de la présence de complexants ou d'autres cations. Il a ainsi été mis en évidence le fait que la présence de cations ou d'anions n'influe pas directement sur la cinétique de biosorption de l'ion uranyle.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

La situation est un peu différente dans le cas de l'absorption par les plantes : la littérature, moins fournie, précise que l'ion uranyle, prédominant aux pH acides, est plus facilement absorbé par la flore (par exemple par le pois *Pisum sativum*) que les complexes hydroxydes (pH autour de 4 à 6) ou carbonates (pH neutre) [23]. A nouveau, l'ion uranyle peut être considéré comme le principal indicateur de biodisponibilité de l'uranium.

Le rôle des plantes dans la spéciation de l'uranium n'est pas négligeable, si bien que la spéciation de celui-ci est susceptible d'être différente dans et en dehors de la rhizosphère. En effet, les plantes mettent en place des stratégies d'acquisition des nutriments, ce qui a pour effet de bouleverser la composition chimique des eaux de sol. Ainsi, au voisinage de la racine, on constate une augmentation du nombre de microorganismes consécutive à la présence d'exsudats relargués par les racines. L'augmentation du compartiment microbien conduit à une plus grande fixation de l'uranium par la biosphère mais aussi à la modification des cycles biogéochimiques comme celui de la matière organique : une modification du niveau de maturation des composés organiques engendre une modification du nombre de sites de complexation existants ou accessibles, et donc influence directement la spéciation de l'uranium. D'autre part, les modifications des conditions physico-chimiques du sol rhizosphérique (pression partielle d'O₂ et de CO₂, humidité, E_h, pH...) sont susceptibles d'entraîner un changement des formes chimiques de l'uranium par divers phénomènes (hydrolyse, précipitation, solubilité différente, stabilité de complexes carbonatés...). Le relargage par la plante de composés organiques (acides organiques, protons, sidérophores, phosphates) dans le cadre d'une stratégie d'acquisition des nutriments fait varier la composition chimique de l'eau de sol. De plus, ces composés sont capables de complexer l'uranium et ainsi de le soustraire à la complexation par d'autres anions (inorganiques comme les carbonates par exemple) ou à d'autres phénomènes.

I.3.5. Interactions entre l'uranium et la phase minérale du sol

I.3.5.1. Adsorption de l'uranium par la phase minérale du sol

Un sol est constitué principalement d'eau, d'air, de matière organique imparfaitement décomposée (humus) et de minéraux solides hérités ou néoformés. Suivant les éléments qui les constituent, ces minéraux ont différentes propriétés de rétention de cations. Certains vont favoriser la sorption ou la précipitation des cations à la surface du solide, tandis que d'autres mettront en œuvre un processus d'échange d'ions en surface et même éventuellement en profondeur du matériau. L'ion uranyle, assez fortement chargé (charge nette : +3,3), interagit de manière importante avec les différentes composantes du sol et, en particulier, avec leurs groupements fonctionnels ionisés de surface.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

La charge de surface des phases minérales du sol est directement influencée par le pH. Le caractère généralement amphotère des groupements ionisés de surface conduit à l'existence d'une valeur de pH particulière, pour laquelle la somme des charges superficielles est nulle. Au-dessus de cette valeur, la charge de surface est négative ; en-dessous, elle est positive. Le diagramme 5, donnant la charge superficielle de différentes phases minérales en fonction du pH, illustre bien ce phénomène.

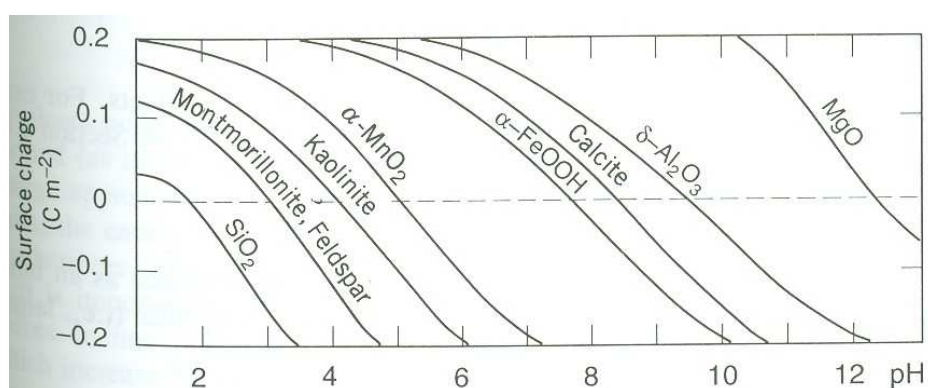


Figure 5 : Evolution de la charge surfacique de différents minéraux selon le pH [50].

Dans les conditions naturelles, les composantes minérales du sol sont généralement chargées négativement en surface et jouent donc un rôle important dans la rétention de métaux lourds et de radionucléides car ce sont souvent des cations multichargés. Ainsi, l'ion uranyle libre UO_2^{2+} et le complexe hydroxyde UO_2OH^+ , dominant la spéciation d'U(VI) en milieu acide à neutre, auraient une forte affinité pour les sites négatifs des phases minérales solides comme les (hydroxy)oxydes de fer (site actif $\equiv\text{FeO}^-$ [49]) ou de manganèse [21], tandis que l'ion uranyle complexé par les carbonates, pour un pH autour de la neutralité, n'est absolument pas retenu par de tels groupements fonctionnels [49]. Cette affinité décroît lorsque le pH augmente [22], vraisemblablement suite à la complexation par les anions inorganiques (carbonates, sulfates...). D'autres minéraux capables d'adsorber l'uranium sont recensés par la littérature : la calcite, le grès, le quartz et l'orthoclase [49].

Les argiles possèdent, quant à elles, le meilleur pouvoir de rétention de l'ion uranyle. En effet, leur structure complexe (un empilement alterné plus ou moins régulier de couches octaédriques à base de motifs AlO_6^{9-} et de couches tétraédriques de SiO_4^{4-} liées entre elles par des ponts $-\text{Si-O-Al}-$) combinée aux substitutions isomorphiques de Al^{3+} par Fe^{2+} ou Mg^{2+} dans la montmorillonite et du Si^{4+} par Al^{3+} dans l'illite donne lieu à un déficit de charges positives. Ceci se traduit par une charge structurale permanente, qui donne lieu à la présence de groupements fonctionnels chargés négativement en surface de ces argiles mais aussi dans les nombreux sites interfoliaires. L'adsorption de contre-ions positifs sur la surface du minéral hydraté permet de compenser cette charge et de respecter l'électroneutralité. Ces cations sont dits échangeables : les cations liés à l'argile par les fonctions silanol ($\equiv\text{Si-OH}$) ou aluminol ($\equiv\text{Al-OH}$) peuvent être remplacés

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

par d'autres cations selon un processus d'échange d'ion. Il existe différents types de sites de rétention suivant le type d'argile [21,49,53].

I.3.5.2. Précipitation de l'uranium

Un autre phénomène est susceptible de se produire dans les eaux naturelles : la précipitation de phases minérales et l'inclusion d'uranium dans celles-ci. En effet, une eau naturelle est le siège de nombreux équilibres chimiques avec les phases minérales en contact, qui jouent le rôle de tampon pour le pH mais aussi pour les concentrations des ions en solution. Ainsi, certaines phases minérales se dissolvent tandis que d'autres se reforment en permanence, suivant la composition chimique des eaux naturelles en présence. Différents anions inorganiques peuvent causer la précipitation de l'uranium : les phosphates et les silicates mais aussi les hydroxydes et les carbonates forment certains composés insolubles avec l'ion uranyle [21].

De ce fait, l'introduction d'uranium dans ce système naturel conduit à la formation de phases minérales secondaires uranifères ou contenant de l'uranium comme impureté : des impuretés ou des phases mal organisées peuvent être localisées aux interfaces ou en inclusion des minéraux secondaires formés à basse température [54]. Dans certains cas, l'uranium est même piégé par des phases minérales en formation : on en retrouve par exemple dans un mélange calcite/aragonite de formule chimique CaCO_3 [45], bien que l'incorporation de l'uranium (VI) dans la calcite soit faible en conditions réductrices [55].

Nous avons déjà vu que les sols réducteurs pouvaient précipiter l'uranium sous forme d'uraninite UO_2 . Des études sur des gisements uranifères très riches à Oklo au Gabon, datant de 2 milliards d'années, montrent que dans ce cas très particulier la stabilité de l' UO_2 à l'échelle des temps géologiques est assurée en partie par la présence de sidérite FeCO_3 , de pyrite FeS_2 et de matière organique sous forme de bitumes, qui captent l'oxygène dissout dans les eaux d'infiltration. De cette manière, le minéral n'est pas réoxydé [48]. Il est probable que le même phénomène se produise sur le site du Bouchet [1], et alors la stabilité des particules d'uraninite serait due aux conditions plutôt réductrices du sol et à la grande fraction de matière organique dans le sol de tourbe.

Finalement, le dernier mode d'immobilisation de l'uranium en phase solide passe par la dégradation d'un complexe uranyle-acide organique par les bactéries autochtones. La biodégradation consiste en l'oxydation de l'acide organique concomitante avec la réduction de l'ion uranyle. L'uranium se retrouve alors sous forme réduite U(IV) et forme des minéraux secondaires [39].

I.4. Conclusion intermédiaire :
Détermination du système d'étude de la thèse

La spéciation d'un élément concerne la distribution de cet élément entre ses différentes formes chimiques. Il est couramment admis que sa toxicité et sa mobilité dans un milieu naturel sont fortement dépendantes de sa spéciation.

Or, l'accès à la spéciation d'un élément par la chimie analytique se révèle être un enjeu complexe, puisque l'élément d'intérêt est souvent présent à l'état de traces, donc à des concentrations bien inférieures aux limites de détection des instruments analytiques utilisés classiquement. D'autre part, certaines formes chimiques de l'élément peuvent avoir un temps de vie court hors équilibre (ces espèces sont dites labiles), ce qui requiert le développement de méthodes analytiques adaptées. En effet, l'analyse de la spéciation consiste généralement à séparer les différentes espèces chimiques (ce qui perturbe l'équilibre) puis à les quantifier à l'aide d'un détecteur. Les espèces labiles, c'est-à-dire peu stables et à cinétique rapide, ont alors tendance à se dissocier pour tenter de rétablir l'équilibre chimique préalablement établi, ce qui complique leur analyse. Enfin, l'analyse de spéciation a pour objectif d'aider à construire des modèles fiables et prédictifs sur le comportement d'un élément dans un système complexe (tels que les milieux environnementaux ou biologiques), ce qui signifie en particulier qu'elle se destine à l'identification d'espèces chimiques inconnues dans des matrices complexes.

Quelques techniques d'analyse directe de la spéciation sont disponibles pour les gammes de concentrations les plus élevées (figure 1). Il s'agit de la spectrométrie Raman, de la RMN, de la spectrophotométrie UV/vis., de la spectroscopie d'absorption des rayons X, mais ces différentes techniques sont limitées par une sensibilité insuffisante. Toutefois, quand l'analyse porte sur des éléments à l'état de traces, on emploie généralement le couplage d'une technique séparative (chromatographie en phase liquide ou électrophorèse capillaire) avec un détecteur de grande sensibilité tel que l'ICPMS (ou l'ESMS quand on souhaite accéder à des informations structurales).

Le contexte du stockage géologique de matières nucléaires ouvre de nouvelles perspectives de recherche en ce qui concerne la possible migration des radionucléides du fût de stockage vers la géosphère, ainsi que leur impact et leur devenir dans les milieux environnementaux et biologiques [11]. Le CEA est un acteur important de la recherche dans le domaine du stockage géologique et de la spéciation des radionucléides. De nombreuses thèses y sont effectuées pour approfondir les connaissances acquises sur les propriétés biogéochimiques des lanthanides et des actinides. La présente thèse, portant sur la spéciation de l'uranium dans l'environnement, s'inscrit dans cette démarche.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Les différents phénomènes auxquels participe l'uranium dans l'environnement rendent sa spéciation très complexe et son étude nécessite donc la prise en compte de nombreux paramètres. Le schéma suivant (figure 6) résume les différents phénomènes (bio)géochimiques auxquels prend part un métal tel que l'uranium dans l'environnement.

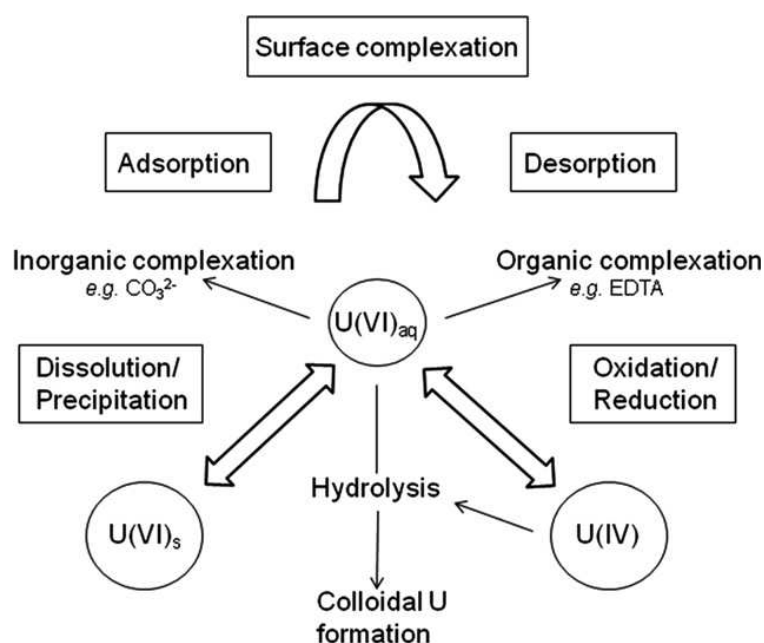


Figure 6 : Schéma de la géochimie de l'uranium [11].

La spéciation de l'uranium dans les eaux naturelles est principalement influencée par la complexation avec les ions inorganiques tels que les carbonates ou les phosphates, ou avec les macromolécules organiques, de type acides humiques et fulviques. Néanmoins, de petites molécules organiques, tels que les acides organiques simples, les acides aminés ou les sucres, peuvent jouer un rôle non négligeable dans certains contextes environnementaux. Par exemple, dans les tourbières, la complexation de l'uranium est fortement influencée par les molécules organiques, présentes en concentrations importantes. Dans ces conditions, la part des petites molécules dans la fraction organique dissoute peut être élevée [29] et donc le rôle des petits acides organiques doit être pris en compte dans la modélisation de la spéciation de l'uranium. La présence d'acides organiques simples à de hautes concentrations (jusqu'à plus de 10^{-3} mol.L⁻¹) a un impact majeur sur la chimie de l'eau de sol (pH, pouvoir tampon [56], E_h ...) mais aussi sur les différentes formes chimiques de l'uranium qui vont coexister.

Les principaux acides organiques simples que l'on rencontre dans les eaux de sols sont décrits par Strobel dans [29]. La figure 3 liste ces composés selon leur formule chimique : on y retrouve des acides monocarboxyliques (formique, acétique, propionique, butyrique, valérique, lactique et pyruvique), dicarboxyliques (oxalique, malonique, succinique, malique, tartrique, fumarique et maléique) ainsi que des acides tricarboxyliques (citrique et aconitique). D'autres acides carboxyliques plus complexes

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

(acides benzoïques ou cinnamiques substitués) sont fréquemment rencontrés dans les sols, mais à des concentrations moindres. Leur rôle est donc plus anecdotique et le travail de cette thèse ne portera pas sur ces ligands.

Finalement, les ligands d'intérêt retenus pour ce travail de thèse sont les 9 acides organiques simples suivants : acides formique, acétique, lactique, oxalique, succinique, tartrique, fumarique et citrique. Ils permettent de couvrir la gamme des petits acides mono-, di- et tricarboxyliques majoritairement présents dans les sols. Au vu des difficultés rencontrées dans cette thèse pour le développement d'une méthode analytique permettant la séparation et l'identification des complexes entre ion uranyle et acides organiques, le système d'étude a souvent été réduit aux complexes uranyle-oxalate.

L'intérêt de la thèse s'est donc porté sur l'approfondissement des connaissances relatives aux interactions entre les petits complexants organiques et l'uranium. Ainsi, la complexation de l'uranium par différents acides organiques hydrophiles a été examinée par le couplage d'une technique séparative (chromatographie liquide, électrophorèse capillaire) avec un détecteur de masse pour l'analyse élémentaire.

Une étude théorique préalable (présentée au paragraphe suivant I.5), consistant en l'établissement de diagrammes de spéciation de l'uranium en présence des acides organiques d'intérêt, a permis de définir les conditions analytiques d'étude de la spéciation de l'uranium.

I.5. Diagrammes de spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples

La modélisation de la spéciation de l'uranium en solution consiste en l'établissement de diagrammes, dits de spéciation, représentant la prédominance des différentes formes chimiques de l'uranium en fonction de la quantité de ligand ou du pH.

I.5.1. Bases de données de complexation

Les diagrammes de spéciation sont réalisés grâce au logiciel CHESS (Mines, Paris) en utilisant les constantes de complexation trouvées dans la NEA [57-59], l'IUPAC [60], Nagra-Psi [61], « Aquatic Chemistry » [50], Minteq (CHESS) [62] et compilées dans la base de données BASSIST [63]. Les constantes d'équilibre acido-basique des acides organiques hydrophiles sont rassemblées par Strobel [29] (cf tableau 1), tandis que les constantes d'acidité des carbonates sont extraites de la NEA.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Il s'agit dans cette présente thèse de développer les techniques analytiques couplées pour l'étude de la complexation de systèmes labiles. Cette étude a porté sur des systèmes dont les constantes de complexation avaient déjà été préalablement déterminées par d'autres méthodes (analyse ou modélisation), afin de confirmer la fiabilité des techniques analytiques développées ici pour la détermination de données de complexation. Le tableau suivant (tableau 2) rassemble les principales constantes utilisées au cours de cette étude, ainsi que les références bibliographiques dont elles ont été tirées et les méthodes employées pour leur détermination.

On définit les constantes de complexation $\beta_{i,j}$ de la manière suivante :

$$\log \beta_{i,j} = \frac{[M_i L_j]}{[M]^i [L]^j} \quad (\text{Eq. 1})$$

Complexe d'U(VI)	i-j	$\log \beta_{i,j}^\circ$	Incertitudes	Référence
Oxalate	1-1	6,2 ₃	± 0,1	Thèse Cyrille Alliot [15]
	1-2	10,4 ₂	± 0,1	
	1-3	11	n.d.	
Acétate	1-1	2,8 ₆	± 0,18	
	1-2	5,5 ₇	± 0,2	
	1-3	7,2 ₅	± 0,2	
Citrate	1-1	8,6 ₉	n.d.	[64]
	2-2	21,3	n.d.	
Lactate	1-1	3,1 ₄	n.d.	[65]
Tartrate	1-1	3,4 ₃	n.d.	IUPAC [60]
Formate	1-1	2,2 ₄	n.d.	
	1-2	3,7 ₄	n.d.	
	1-3	4,1 ₃	n.d.	
Carbonate	1-1	9,9 ₄	± 0,03	NEA [57-59]
	1-2	16,6 ₁	± 0,09	
	1-3	21,8 ₄	± 0,04	
	3-6	54	± 1	
Hydroxyde	1-1	-5,2 ₅	± 0,24	
	1-2	-12,1 ₅	± 0,07	
	1-3	-20,2 ₅	± 0,42	
	1-4	-32,4	± 0,68	
	2-1	-2,7	± 1	
	2-2	-5,6 ₂	± 0,04	
	3-4	-11,9	± 0,3	
	3-5	-15,5 ₅	± 0,12	
	3-7	-32,2	± 0,8	
	4-7	-21,9	± 1	
Mixte hydroxyde-carbonate	(UO ₂) ₁₁ (OH) ₆ (CO ₃) ₁₂ ²⁻	-72,5	± 2	

Tableau 2 : Principales constantes de complexation utilisées dans la modélisation de la spéciation de l'uranium ; n.d. signifie que les incertitudes associées n'ont pas été précisées.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Les diagrammes de spéciation sont employés ici dans un double but :

- prédire les conditions analytiques adaptées à l'analyse des complexes entre l'ion uranyle et les acides organiques d'intérêt,
- vérifier que les conditions analytiques choisies permettent l'étude de la complexation de l'ion uranyle.

I.5.2. Choix des conditions analytiques d'étude

Au vu des systèmes étudiés (uranyle-acides organiques), les conditions analytiques doivent respecter plusieurs points. D'abord, le milieu (phase mobile en LC ou électrolyte en EC) doit être acide, afin de pouvoir jouer sur l'état d'ionisation des acides organiques et ainsi sur leur rétention. D'autre part, l'emploi d'un milieu à pH acide se justifie par le fait que les complexations « parasites » (i.e. complexations avec d'autres espèces que les acides organiques étudiés) de l'ion uranyle sont favorisées à pH supérieur à 3,5 : il s'agit des complexes hydroxyde ou carbonates. Les complexes carbonates seront pris en compte dans la modélisation de la spéciation par l'ajout de la fugacité du dioxyde de carbone dans l'air ambiant, pouvant donner naissance à des espèces carbonates en se dissolvant dans l'échantillon.

La force ionique des éluants considérés joue un rôle plutôt restreint puisque les constantes de complexations sont assez peu affectées par un changement de force ionique. Par exemple, le logarithme de la constante de stabilité du complexe UO_2Oxal , déterminée par EC-ICPMS dans la présente thèse, vaut 6,40 à dilution infinie, tandis qu'elle vaut 5,71 à une force ionique de 50 mmol.L⁻¹. Cet écart modifie assez peu les zones de prédominance des espèces complexées de l'uranium.

En outre, à cette force ionique, la nature du sel de fond utilisé influence très peu la forme sous laquelle se trouve l'uranium. En effet, le type d'électrolyte de fond n'est même pas pris en compte dans la correction en force ionique de Davies, valable jusque 0,1 mol.L⁻¹, et d'autre part, le sel de fond a assez peu d'impact sur la valeur de constantes de complexation corrigées par la SIT.

Les échantillons utilisés dans l'étude de complexation de l'ion uranyle par les acides organiques simples sont élaborés à partir d'une solution mère de perchlorate d'uranyle (obtenue par évaporation des nitrates) et d'acides organiques à des concentrations variables (cf tableau 3). L'échantillon est systématiquement préparé dans la phase mobile ou l'électrolyte correspondant. Le sel de fond utilisé est généralement le chlorure d'ammonium.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

Echantillon	Concentration de chaque acide organique (ppm)	Concentration en uranium (ppm)
<i>n</i> °1	100	1000
<i>n</i> °2	100	500
<i>n</i> °3	1000	1000
<i>n</i> °4	1000	500
<i>n</i> °5	1000	100

Tableau 3 : Concentrations en acides organiques et en uranium dans les échantillons analysés (par LC-ICPMS).

Au cours de ce mémoire, on désigne les échantillons étudiés par leur ratio uranium-acide organique : un ratio 1-x signifie que la concentration en acide organique (oxalate par exemple) vaut x fois celle de l'uranium. Ainsi, les échantillons du tableau 3 (analysés par LC-ICPMS au chapitre III.3.) sont les ratios 1-0,26 (*n*°1), 1-1,32 (*n*°2), 1-2,64 (*n*°3), 1-13,2 (*n*°4) et 1-26,4 (*n*°5), pour une concentration en uranium de $4,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Dans un premier temps, les diagrammes de spéciation sont établis dans le cas simpliste d'un seul ligand : l'acide oxalique a été choisi pour ses bonnes propriétés de complexation et pour sa présence dans de nombreux milieux environnementaux.

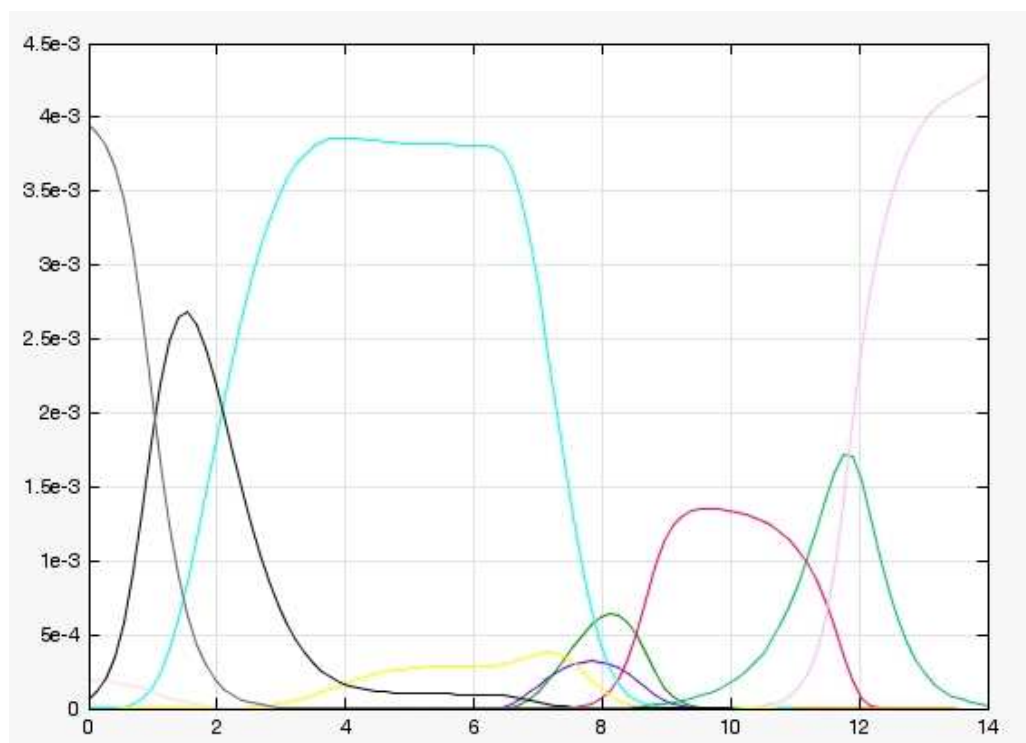
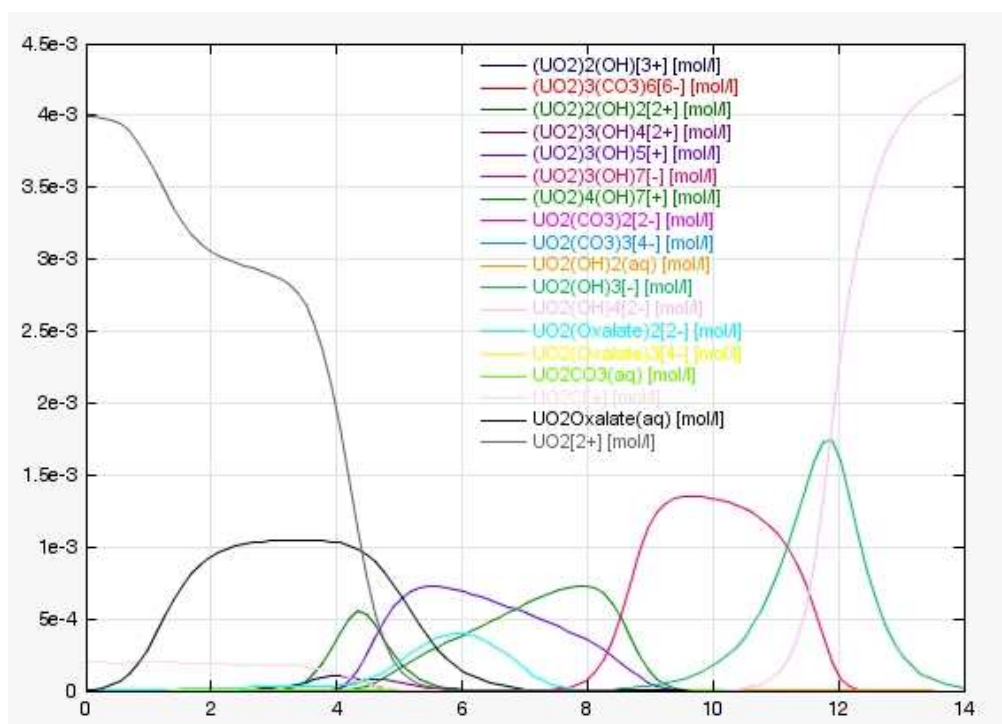
I.5.3. Système uranyle-oxalate

L'oxalate est un des meilleurs complexants de l'uranium parmi les acides organiques étudiés (cf tableau 2), l'étude de complexation de l'uranium sera donc centrée sur l'interaction avec l'ion oxalate.

Les diagrammes de spéciation sont construits dans toute la gamme de pH (0-14), en prenant en compte les concentrations en uranium et en acides organiques définies dans le tableau 3. Le sel de fond sera modélisé par $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ de chlorure d'ammonium, la nature et la concentration de celui-ci ayant peu d'impact sur les zones de prédominance des espèces complexées. La fugacité du dioxyde de carbone dans l'air atmosphérique a pour valeur $3,16 \cdot 10^{-4} \text{ atm}$. Les échantillons considérés sont les *n*°1, *n*°3 et *n*°5 (tableau 3). 1000 ppm d'uranium correspondent à une concentration de $4,2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Les diagrammes de spéciation établis dans ces conditions sont présentés dans les figures suivantes (figures 7, 8 et 9), chaque espèce complexée étant représentée par la même couleur sur les trois diagrammes.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement



I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

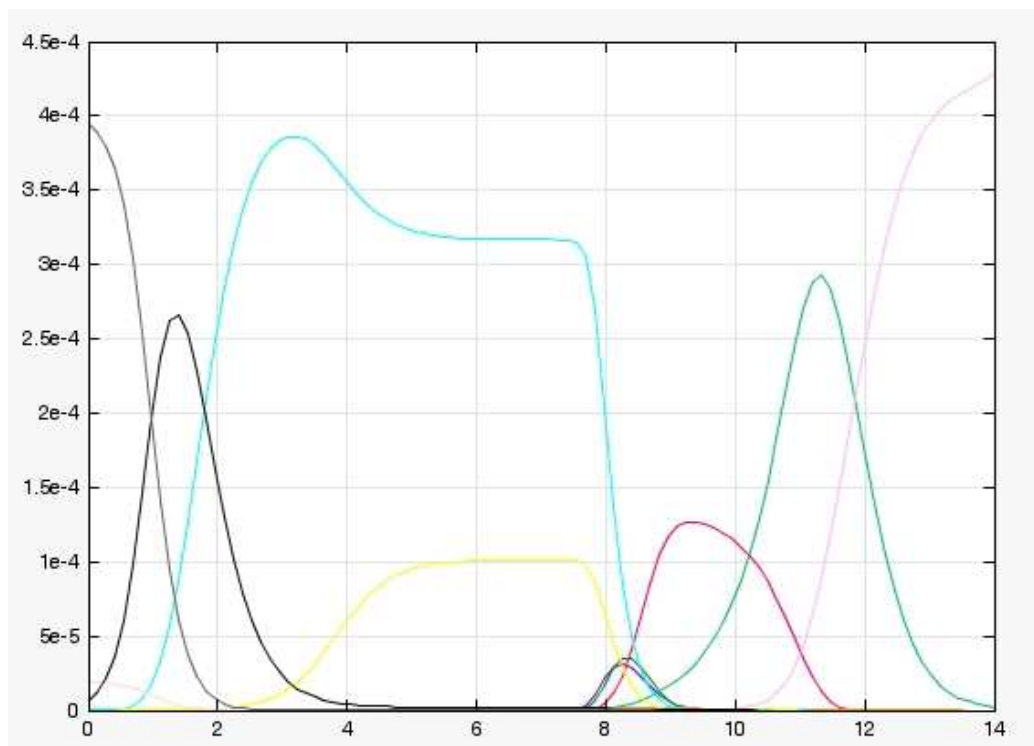


Figure 9 : Diagramme de spéciation uranyle-oxalate correspondant à l'échantillon n°5 (cf tableau 3).

Abscisse : pH ; ordonnée : concentration des espèces de l'uranium.

Légende : cf figure 7.

Ces trois diagrammes de spéciation permettent de constater que le domaine de prédominance des complexes uranyle-oxalate est compris dans une gamme de pH entre 1 et 8, ce qui est avantageux car les séparations chromatographiques d'acides organiques sont plus aisées dans cette gamme de pH. En dessous de pH 1, c'est l'uranyle libre qui prédomine et on note la présence en très faible proportion du complexe UO_2Cl^+ , provenant de l'interaction avec le sel de fond. Celle-ci peut donc être raisonnablement négligée. Au dessus de pH 8, les complexes hydroxydes ou carbonates prédominent, ce qui confirme ce qui a été énoncé au chapitre I.3.

Dans la gamme de prédominance des complexes uranyle-oxalate, on voit que l'ion majoritaire dépend de la concentration du ligand oxalate. En effet, à faible concentration (figure 7), et à pH compris entre 1 et 4, l'ion uranyle libre prédomine car la quantité de ligand présent est insuffisante pour complexer tous les ions uranyle disponibles. Toutefois, environ 25% de l'uranium est sous forme de complexe oxalate. A pH supérieur à 4, il y a une grande compétition entre complexes oxalate et complexes hydroxyde, si bien que l'uranium est réparti entre plusieurs espèces.

A concentration similaire entre ion uranyle et ligand oxalate (figure 8), les complexes oxalate prédominent dans la gamme de pH de 1 à 8 et l'espèce majoritaire est le complexe de stoechiométrie 1-2 $\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$. En excès de ligand (figure 9), le même

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

complexe $\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$ prédomine dans cette gamme de pH, mais la proportion du complexe de stoechiométrie 1-3 $\text{UO}_2(\text{Oxal})_3^{4-}$ est plus importante (environ 25%).

En conclusion de cette partie, les complexes uranyle-oxalate prédominent la spéciation des échantillons aux pH acides (compris entre 1 et 8) en présence d'un excès de ligand.

I.5.4. Système uranyle-acides organiques

Les six acides organiques d'intérêt les plus étudiés au cours de cette thèse sont les suivants : oxalique, tartrique, citrique, lactique, formique, acétique.

Un diagramme de spéciation a donc été élaboré pour simuler la compétition de ces différents ligands dans les conditions de l'échantillon n°3 (cf tableau 3), c'est-à-dire à des concentrations comparables en acides organiques et en uranium (1000 ppm chacun).

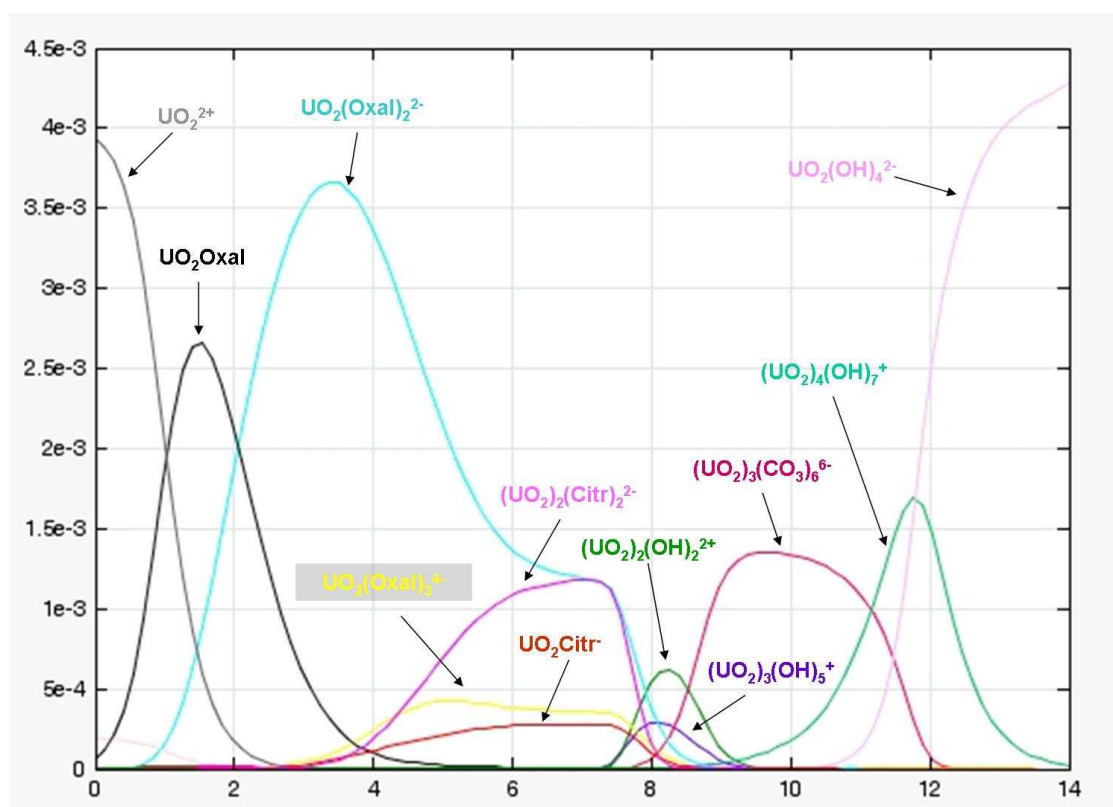


Figure 10 : Diagramme de spéciation de l'uranium en présence de six acides organiques.
Abscisse : pH ; ordonnée : concentration des espèces de l'uranium.

La présence de six acides organiques ne modifie pas les espèces prédominantes à pH supérieur à 8 (cf figures 8 et 10). En revanche, à pH acide, l'ajout d'acides organiques supplémentaires fait apparaître de nouvelles espèces complexées. Les complexes uranyle-oxalate restent majoritaires dans la gamme de pH entre 1 et 6, mais entre pH 6 et 8, les complexes uranyle-citrate deviennent prédominants. Les complexes entre l'ion uranyle et les acides acétique, lactique, tartrique et formique ne sont présents à des

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

concentrations négligeables et jouent alors peu de rôle dans la spéciation de l'uranium. Les résultats obtenus sont justifiés par le fait que les constantes de complexation avec les oxalates et les citrates sont les plus élevées (cf tableau 2).

I.5.5. Spéciation de l'uranium dans une eau naturelle

Les résultats obtenus au cours de cette thèse ont pour objectif de modéliser avec plus de fiabilité le comportement de l'uranium en milieu naturel.

Au cours de la thèse de Vannapha Phrommavanh [1], des prélèvements d'échantillons d'eau de sol ont été effectués sur le site du Bouchet. Ces échantillons contiennent une quantité non négligeable d'uranium puisqu'ils ont été recueillis à proximité d'une dépositante, dernier vestige des activités industrielles d'extraction d'uranium à partir de minerai qui ont eu lieu sur ce site dans les années 1950. Le sol de ce site est constitué de tourbe, donc riche en matière organique. L'analyse de ces échantillons a conduit aux concentrations moyennes présentées dans le tableau 4, ainsi qu'à un pH moyen de 6,5 et un E_h de +100 mV.

Principaux cations	Ca ²⁺	Na ⁺	Mg ²⁺	K ⁺	UO ₂ ²⁺
Concentration moyenne (mol.L ⁻¹)	6,5.10 ⁻³	8,5.10 ⁻⁴	5,0.10 ⁻⁴	2,0.10 ⁻⁴	10 ⁻⁶
Principaux anions	carbonates	oxalate	SO ₄ ²⁻	Cl ⁻	Si dissout
Concentration moyenne (mol.L ⁻¹)	6,0.10 ⁻³	2,6.10 ⁻³	2,5.10 ⁻³	6,0.10 ⁻⁴	3,5.10 ⁻⁴

Tableau 4 : Concentrations moyennes dans l'eau de sol déterminées sur le site du Bouchet (cf thèse V. Phrommavahn [1]) ; pH moyen : 6,5.

Afin de pouvoir construire un diagramme de spéciation de l'uranium, les interactions entre les autres constituants du mélange doivent être prises en compte. Selon la même démarche qu'au début de ce chapitre, les constantes de complexations entre les cations et les anions du tableau 4 sont ajoutées à la base de données utilisée par CHESS. Elles sont tirées des mêmes références qu'au début de ce chapitre.

I. Spéciation de l'uranium dans l'environnement

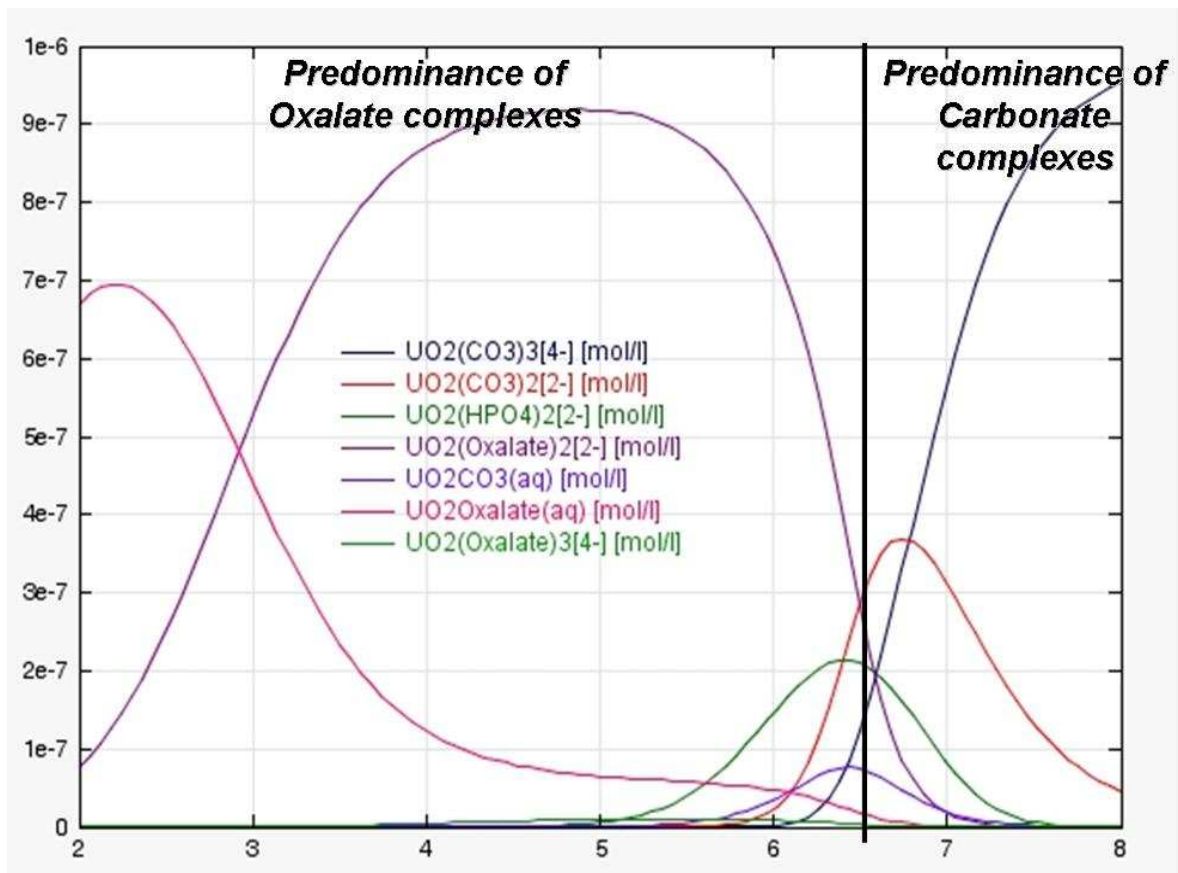


Figure 11 : Diagramme de spéciation de l'uranium dans l'eau de sol.
Abscisse : pH ; ordonnée : concentration des espèces de l'uranium.

Ce diagramme de spéciation montre qu'à pH acide, les complexes uranyle-oxalate prédominent, comme il a déjà été montré pour les échantillons synthétiques. Ainsi, pour un pH inférieur à 6,5, l'espèce majoritaire est $\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$. Pour un pH supérieur, ce sont les espèces carbonatées qui prédominent. Finalement, au pH de l'eau naturelle, un équilibre s'établit entre complexes oxalate et carbonate et l'uranium se répartit entre ces deux types de ligands. Cet exemple nous permet de constater que les acides organiques hydrophiles peuvent jouer un rôle important dans la spéciation des métaux et des radionucléides dans un contexte environnemental.

II. Méthodes analytiques

II.1. Le spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif (ICPMS)

Le principe du spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif, l'ICPMS, est d'ioniser les échantillons liquides à pression ambiante grâce à un plasma de gaz neutre (généralement l'argon) généré et entretenu par un champ électromagnétique à hautes fréquences. L'échantillon à analyser est dispersé dans un courant gazeux (argon) et injecté au cœur d'un plasma à très haute température (≈ 7000 K). L'énergie transférée du plasma à l'échantillon entraîne tour à tour une dissociation, une atomisation et une ionisation de ce dernier. Une partie du plasma contenant les ions (de l'ordre de 1 %) est alors extraite à travers un cône d'échantillonnage et un cône d'épluchage vers le spectromètre de masse. Un jeu de lentilles électrostatiques, disposé en aval dans une région de très basse pression, extrait et focalise les ions vers un analyseur qui transmet les ions d'un rapport masse sur charge sélectionné à un détecteur. Le nombre de coups enregistré pour un isotope défini est ainsi directement fonction de la concentration de ce dernier dans l'échantillon.

L'appareil utilisé au cours de cette thèse (Finnigan Element 2, Thermo Fisher) est un spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif (ICPMS), équipé d'un double secteur magnétique pour la séparation d'ions à haute résolution. Le choix s'est porté sur cet appareil car il dispose d'une très grande sensibilité, ce critère étant nécessaire pour les études de spéciation d'éléments à l'état de traces. Cet instrument analytique permet ainsi l'utilisation de faibles quantités d'échantillons, ce qui constitue un avantage majeur quand il s'agit d'étudier des radionucléides. Il est composé d'un nébuliseur, d'une chambre de nébulisation, d'une torche à plasma, d'une interface pour l'extraction des ions, d'une optique ionique, d'un analyseur à secteur magnétique et d'un détecteur. La figure 12 ci-dessous illustre ce principe.

II. Méthodes analytiques

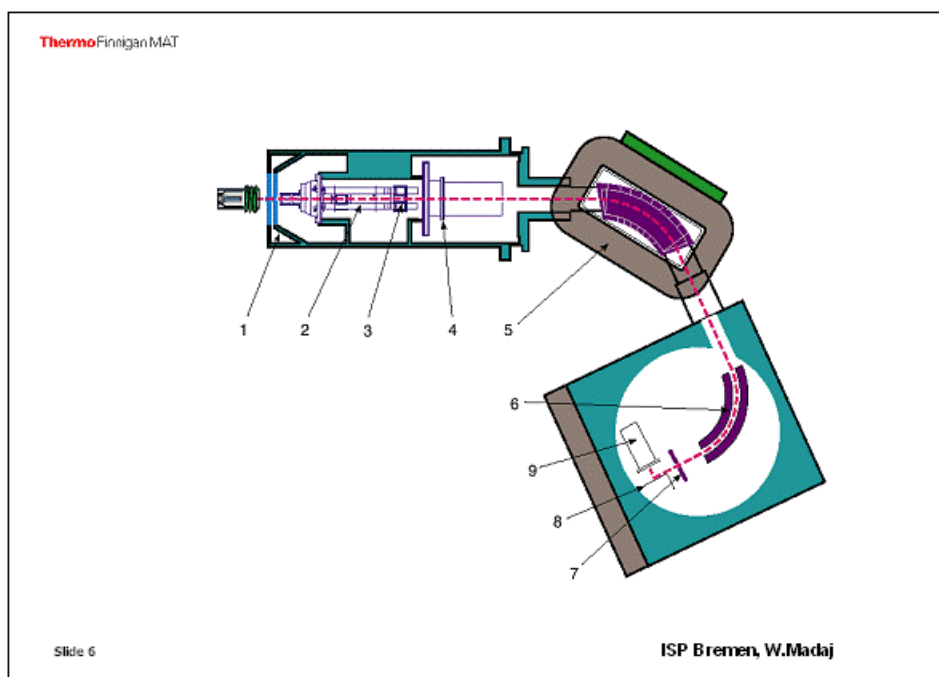


Figure 12 : Schéma de principe de l'ICPMS Element 2.

- 1 : Interface avec le plasma
- 2 : Optique de transfert et focalisation
- 3 : Accélération et focalisation du faisceau
- 4 : Fente d'entrée
- 5 : Secteur magnétique
- 6 : Secteur électrique
- 7 : Fente de sortie
- 8 : Dynode de conversion
- 9 : Détecteur de type multiplicateur d'électron secondaire double mode

II.1.1. Nébuliseur

L'échantillon liquide est transformé en spray dans le nébuliseur par l'emploi d'un gaz neutre (argon). Les gouttelettes formées sont triées par la chambre de nébulisation et transportées jusqu'à la torche à plasma. Il existe différents types de nébuliseurs et de chambres de nébulisation, suivant les besoins expérimentaux. L'ICPMS utilisé est doté d'un micronébuliseur pneumatique. Les principaux appareillages sont décrits en annexe VI.2.

II.1.2. Chambre de nébulisation

Le spray produit par le nébuliseur est trié dans la chambre de nébulisation afin d'obtenir des gouttelettes de petit diamètre uniquement (afin de minimiser les perturbations du plasma). Les gouttelettes sont ensuite transportées jusqu'à la torche à plasma. La géométrie de la chambre de nébulisation influe sur l'efficacité du transport de l'échantillon. Il existe deux types de chambres de nébulisation : les chambres de sédimentation et les chambres cycloniques, qui sont détaillées dans l'annexe.

II. Méthodes analytiques

II.1.3. Torche à plasma

Le principe de la torche à plasma est celui de la décharge électrique dans un gaz à pression atmosphérique, entretenue par les hautes fréquences issues d'un générateur radiofréquences. Le gaz utilisé est communément l'argon, car son énergie d'ionisation est particulièrement élevée (15,76 eV), ce qui permet d'ioniser tous les éléments dont la première énergie d'ionisation est inférieure à cette valeur. Au moins 70 éléments de la classification périodique peuvent ainsi être analysés par ICPMS.

Le plasma est généré à l'extrémité d'une torche en quartz d'une dizaine de centimètres constituée de trois tubes concentriques où circulent trois flux distincts d'argons gazeux (figure 13).

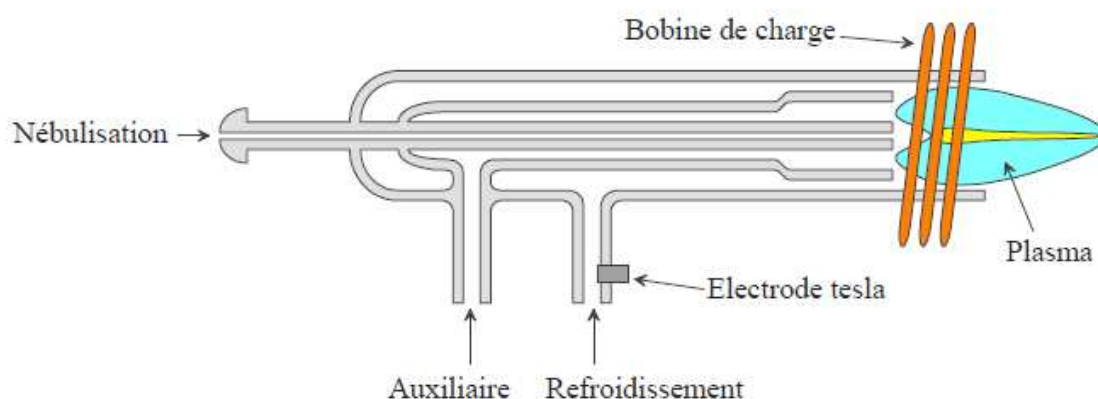


Figure 13 : Schéma de principe d'une torche à plasma [18].

Dans le tube externe, le gaz de refroidissement permet l'alimentation en argon du plasma et la protection des parois de la torche. Dans le tube intermédiaire, le gaz auxiliaire permet d'empêcher la fusion du tube en verre central. Et le flux d'argon circulant dans le tube interne sert au transport de l'échantillon.

La bobine de charge, disposée à l'extrémité de la torche, est constituée d'un tube hélicoïdal en cuivre refroidi intérieurement par circulation d'eau. Son alimentation par une haute fréquence de 27 MHz délivrée par le générateur RF crée un champ magnétique longitudinal à l'axe de la torche. Une décharge électrique sous forme d'étincelle est initiée par une électrode tesla disposée dans le flux de gaz de refroidissement, elle permet la production d'électrons libres. Ceux-ci sont entraînés dans une orbite circulaire par le champ magnétique et l'énergie électrique délivrée par la bobine de charge est transmise aux électrons sous forme d'énergie cinétique. La collision entre électrons libres et atomes d'argon permet d'initialiser et d'entretenir le plasma par transfert d'énergie. Le plasma atteint des températures de l'ordre de 10000 K. Le gaz porteur et l'échantillon sont chauffés par rayonnement thermique du plasma à une température de l'ordre de 7000 K ce qui permet une

II. Méthodes analytiques

dissociation, une atomisation et une ionisation des éléments de l'échantillon avec un rendement proche de 100 %. Les ions obtenus par cette méthode sont des cations.

II.1.4. Extraction des ions du plasma

La principale difficulté de l'extraction des ions du plasma est le passage entre la torche à plasma à pression atmosphérique et le vide poussé de l'optique ionique du spectromètre de masse. En pratique, un étage de pression intermédiaire est établi entre deux cônes de nickel (figures 14). Le premier cône ou cône d'échantillonnage dont le sommet est percé d'un orifice de l'ordre de 1 mm de diamètre est placé en contact direct du plasma. Le deuxième cône ou cône d'épluchage a un orifice de diamètre un peu plus petit et est placé à moins d'un centimètre du premier cône, qui lui permet de prélever principalement les ions du plasma provenant de l'échantillon. Une lentille placée en aval du cône d'épluchage et portée à un potentiel négatif permet l'extraction des ions positifs vers l'optique ionique.

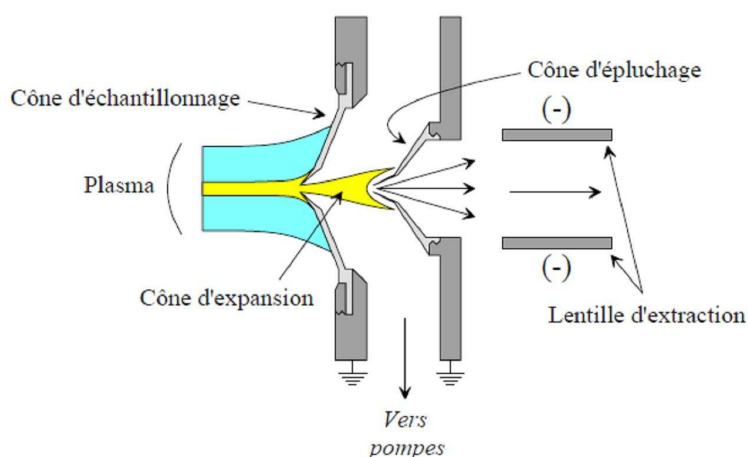


Figure 14 : Schéma d'une interface d'extraction des ions du plasma [18].

II.1.5. Optique ionique

En sortie de l'interface, un jeu de lentilles électrostatiques permet le transport et la focalisation du faisceau d'ions vers le secteur magnétique de l'analyseur. Une de ces lentilles est de type « photon stop » et, portée à un potentiel positif, elle dévie momentanément la trajectoire des ions positifs. Ceci permet d'arrêter la majorité des photons provenant du plasma et ainsi réduire le bruit de fond au niveau du détecteur.

II. Méthodes analytiques

II.1.6. Analyseur

Les ions atteignant le double secteur magnétique-électrostatique sont séparés dans un premier temps selon leur rapport m/z . Or, ils arrivent sur l'analyseur (figure 15) avec des énergies cinétiques variées, donc une deuxième focalisation, cette fois en énergie, est réalisée grâce au secteur électrostatique. En sortie de l'analyseur, une fente permet de sélectionner les ions d'un même rapport m/z donné et de les transmettre vers le détecteur.

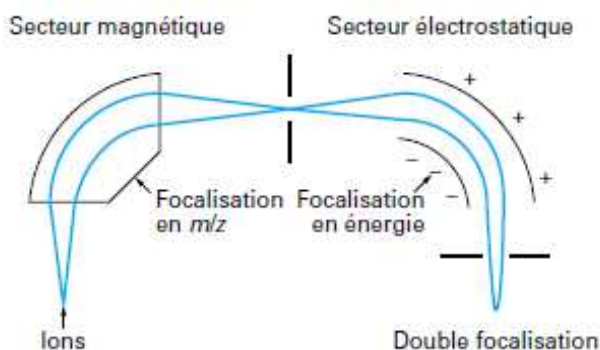


Figure 15 : Schéma de principe d'un analyseur à double secteur magnétique-électrostatique [66].

II.1.7. Détecteur

Le détecteur employé est un multiplicateur d'électrons (figure 16).

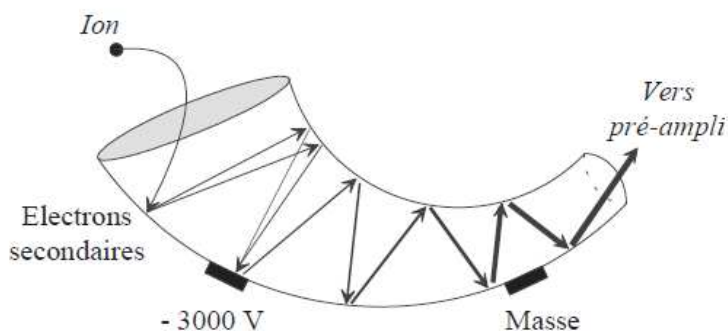


Figure 16 : Schéma d'un multiplicateur d'électrons [18].

A la sortie de l'analyseur, les ions sélectionnés frappent la paroi interne du détecteur. Le choc arrache des électrons secondaires au matériau. Ceux-ci sont accélérés par application d'une différence de potentiel entre l'entrée et la sortie du détecteur et frappent à leur tour la paroi du détecteur en éjectant de nouveaux électrons. Ce scénario se répète en s'amplifiant tout le long du multiplicateur d'électrons, provoquant un phénomène d'avalanche avec un gain de l'ordre de 10^7 . L'intensité mesurée en sortie du détecteur est directement reliée au nombre d'ions venant percuter l'entrée du détecteur. Ce dernier est situé dans une zone de vide poussé afin d'éviter l'apparition d'avalanches fortuites. La forme incurvée du

II. Méthodes analytiques

détecteur empêche qu'un ion positif créé par le choc avec un électron ne remonte jusqu'à l'entrée du multiplicateur, amorçant ainsi une nouvelle avalanche.

II.2. La chromatographie liquide [67]

II.2.1. Principe de séparation

La séparation par chromatographie en phase liquide est basée sur la différence de distribution des analytes entre une phase stationnaire de type silice ou polymère greffé et une phase mobile liquide (solvant pur ou mélange de solvants).

Cette distribution est caractérisée par le coefficient de partage K_p entre les deux phases non miscibles :

$$K_p = \frac{C_s}{C_m} \quad (\text{Eq. 2})$$

où C_s et C_m désignent respectivement les concentrations d'un analyte à l'équilibre dans les phases stationnaire et mobile.

Pendant l'analyse chromatographique, l'analyte est soumis à deux effets antagonistes :

- un effet d'entraînement par la phase mobile
- et un effet de rétention par la phase stationnaire.

Deux espèces chimiquement différentes vont se distribuer différemment entre les deux phases et, la phase stationnaire ayant un effet rétentif, l'analyte ayant la plus grande affinité pour la phase mobile sera détecté le premier en sortie de colonne chromatographique. En jouant sur les propriétés des phases mobile et stationnaire, on peut modifier le partage des analytes sur les deux phases et ainsi les séparer par chromatographie. En général, lorsque les quantités d'échantillon injectées sont faibles, les pics observés au niveau du détecteur sont de forme gaussienne.

Une séparation correcte en chromatographie liquide implique que les analytes soient retenus sur la colonne, que leurs pics associés soient séparés (c'est-à-dire que les bandes d'analytes soient plus séparées qu'elles ne sont étalées) et que le temps d'analyse soit acceptable.

Les grandeurs fondamentales utilisées en chromatographie (temps de rétention, efficacité, sélectivité...) sont présentées en annexe VI.4.

II. Méthodes analytiques

II.2.2. Phases stationnaires adaptées à la séparation d'ions

II.2.2.1. Chromatographie à polarité de phases inversées

Ce n'est pas à proprement parler un type de chromatographie adapté à la séparation d'ions. En effet, c'est le mode de séparation le plus populaire en LC, grâce à sa grande efficacité et ses multiples applications, mais il s'adresse plus particulièrement à la séparation de molécules organiques plutôt apolaires. Or, certaines phases stationnaires de ce type permettent la séparation de composés hydrophiles (cf l'ACCLAIM OA utilisée au cours de cette thèse, annexe VI.2.2.).

En chromatographie à polarité de phases inversées, la séparation des analytes est réalisée par partage entre une phase stationnaire apolaire et une phase mobile polaire. La rétention de composés ionisables peut alors être envisagée dans des conditions d'analyse où ils ne sont pas ionisés, ou avec des phases stationnaires dédiées.

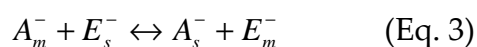
Classiquement, les phases stationnaires sont composées de microparticules de silice greffées par une chaîne alkyle C₈ ou C₁₈. Les microparticules peuvent aussi être polymériques, de type copolymère styrène-divinylbenzène, stable dans une plus large gamme de pH.

Les phases mobiles utilisées sont principalement de l'eau à laquelle est ajouté un modificateur organique. Un tampon phosphate ou acétate est communément utilisé pour fixer le pH (et ainsi l'ionisation des analytes).

II.2.2.2. Chromatographie d'échange d'ions

Les séparations par échange d'ions ont pour cibles les espèces ionisées ou ionisables, bien que la séparation de composés non ioniques puisse être obtenue par partage (dit de Donnan) entre les deux phases.

Pour un analyte ionique, la rétention provient de l'attraction par les groupements fonctionnels de charge opposée de la phase stationnaire. La compétition entre l'analyte et l'ion développeur de la phase mobile va permettre de modifier la sélectivité de cet analyte. L'équilibre d'échanges d'ions s'écrit, dans le cas d'un analyte anionique A⁻ et d'un ion développeur E⁻ :



Les indices m et s désignent respectivement l'appartenance aux phases mobile et stationnaire.

II. Méthodes analytiques

Les phases stationnaires sont généralement des copolymères styrène/divinylbenzène de structure macroporeuse, sur lesquelles sont greffés des groupements fonctionnels sulfonate $\equiv\text{SO}_3^-$ ou carboxylate $\equiv\text{CO}_2^-$ (échangeur de cations respectivement fort et faible) ou des groupements fonctionnels ammonium quaternaire $\equiv\text{NR}_3^+$ ou non quaternaire $\equiv\text{NHR}_2^+$ (échangeur d'anions respectivement fort et faible).

Les phases mobiles employées sont des solutions aqueuses de sels de l'ion développeur, auxquelles peut être ajouté un tampon pH et éventuellement moins de 5 % de solvant organique. La séparation peut être optimisée par l'utilisation de gradients de force ionique et/ou de pH.

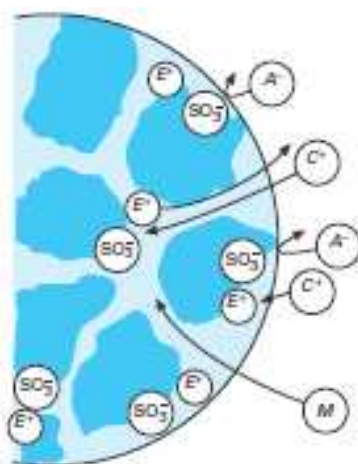


Figure 17 : Schéma de principe de la chromatographie d'échange d'ions [67] ;
 C^+ désigne le cation à analyser, A^- le contre-ion correspondant, E^- l'ion développeur échangeable et $-\text{SO}_3^-$ un groupement fonctionnel.

II.2.2.3. Chromatographie d'exclusion d'ions

Ce type de chromatographie est réalisé sur les mêmes types de phases stationnaire et mobile que pour l'échange d'ions, excepté que les groupements fonctionnels de la phase stationnaire doivent être de même signe que les analytes. L'exclusion d'ions est fondée sur la répulsion électrostatique. Pour une espèce ionisable, l'exclusion croît avec le degré d'ionisation. Les espèces totalement ionisées sortent quasiment au temps de rétention nulle. La sélectivité de la colonne va dépendre essentiellement du pH, car c'est celui-ci qui influe principalement sur l'état d'ionisation.

II. Méthodes analytiques

Les mécanismes de rétention reposent sur la diffusion des analytes par gradient de concentration, dans des pores de phase liquide immobilisée agissant comme une phase stationnaire (ce phénomène est nommé partage de Donnan), combiné à la répulsion électrostatique due à la proximité de groupements fonctionnels (ceci correspond à l'exclusion d'ions) [68].

II.2.2.4. Chromatographie d'appariement d'ions

La chromatographie d'appariement d'ions est une des techniques utilisées en couplage LC-ICPMS. Elle consiste en l'utilisation des phases stationnaires de la chromatographie en phase inverse, mais un contre-ion de charge opposée à celle de l'analyte est ajouté à la phase mobile afin de permettre la formation de paires d'ions. Le contre-ion est généralement un cation à longue chaîne alkylée (tel qu'un sel d'ammonium tétraalkylé) ou un anion de type alkylsulphonate en C₅-C₁₀.

Deux mécanismes de rétention sont mis en jeu : d'une part, le contre-ion se fixe par effet hydrophobe sur les chaînes alkyle de la phase stationnaire apolaire et la partie chargée du contre-ion s'oriente vers la phase mobile polaire. Les analytes ionisés vont ainsi pouvoir s'échanger à la surface de l'échangeur d'ions généré in situ. D'autre part, il y a interaction hydrophobe entre la paire d'ions formée par le contre-ion et l'analyte et les chaînes alkyle de la phase stationnaire. Ce deuxième effet se manifeste principalement lorsque l'analyte est suffisamment hydrophobe.

La sélectivité est alors contrôlée par le pH de la phase mobile et sa proportion en solvant organique.

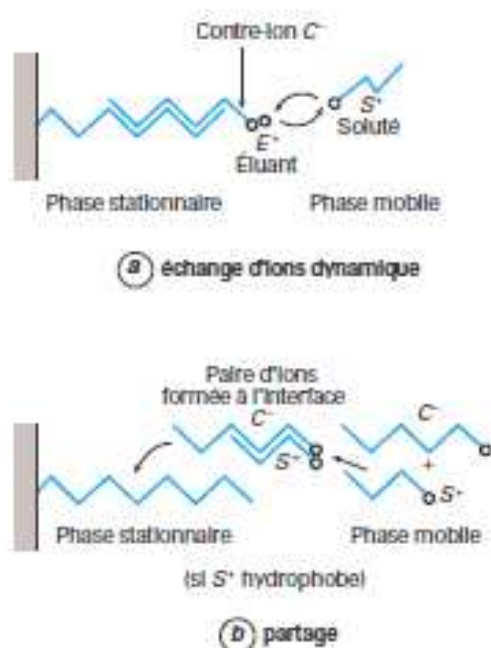


Figure 18 : Mécanismes de rétention en chromatographie d'appariement d'ions [67].

II. Méthodes analytiques

II.2.2.5. Chromatographie sur carbone graphitique poreux

Les phases stationnaires à base de carbone graphitique poreux sont constituées d'un empilement de feuillets de carbone, comme illustré par la figure 19 ci-dessous :

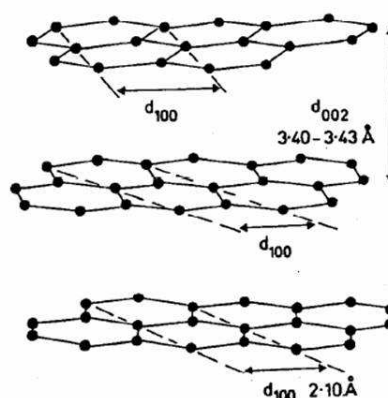


Figure 19 : Structure d'une phase stationnaire de type carbone graphitique poreux [69].

La rétention des analytes sur ce type de phases stationnaires résulte de la combinaison de deux effets : un mécanisme d'interaction hydrophobe, pour lequel il y a interaction π - π entre les composés aromatiques (voire même hydrophobes) et les cycles de carbone de la colonne ; et dans une moindre mesure, un mécanisme d'échange d'ions mal identifié, provenant vraisemblablement de l'adsorption de cations de la solution à la surface du carbone graphitique poreux ou de la formation de groupes fonctionnels -COOH par altération du réseau graphitique [69].

II.3. Couplage LC-ICPMS : **Fonctionnement et principales limitations**

Le principe de ce couplage est d'utiliser l'ICPMS comme détecteur élémentaire de haute sensibilité pour la séparation chromatographique en phase liquide. La mise en œuvre d'une interface entre LC et ICPMS est plutôt aisée puisque, d'une part, le système d'introduction en ICPMS est adapté à des échantillons liquides à température et pression ambiantes et, d'autre part, le débit de phase mobile de la LC (de l'ordre de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) est compatible avec les systèmes classiques d'introduction d'échantillon de l'ICPMS.

II. Méthodes analytiques

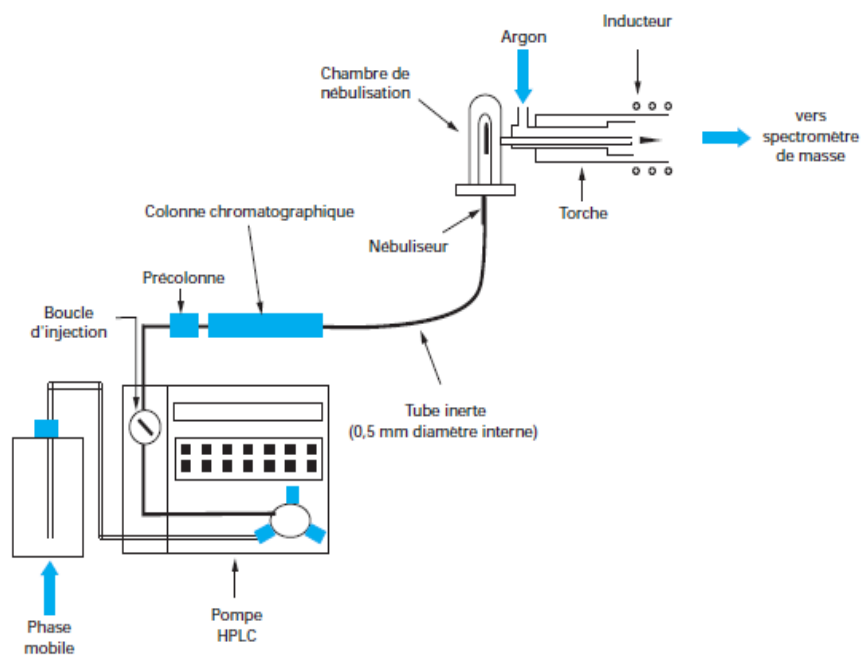


Figure 20 : Schéma de principe du couplage LC-ICPMS [70].

La ligne de transfert entre les deux appareils est constituée d'un tube inerte en PEEK (polyétheréthercétone) ou en PTFE (polytétrafluoroéthylène, i.e. teflon) de diamètre et longueur minimaux, afin d'éviter un élargissement des pics et une diminution de la résolution.

La mise en place du couplage LC-ICPMS impose quelques limitations à la nature de la phase mobile. En effet, celle-ci contient généralement une certaine concentration de sels dissous ou d'agents de paires d'ions et une certaine teneur en solvant organique, qui peuvent altérer les performances de l'ICPMS en causant l'instabilité du plasma. Un compromis doit être trouvé entre l'optimisation de la séparation et les performances de détection.

La présence de fortes concentrations de sels dans la phase mobile est déconseillée car elle entraîne un bouchage du nébuliseur et des cônes échantillonneur et écorceur, ainsi qu'une dérive du signal à court terme et une diminution de la sensibilité. L'intensité de ces phénomènes est réduite quand on ajoute environ 2% d'acide nitrique à la phase mobile en sortie de colonne. On tente également d'employer des sels se décomposant en espèces gazeuses dans le plasma, ce qui évite leur adsorption sur les cônes.

II.4. L'électrophorèse capillaire

Le fonctionnement d'une électrophorèse capillaire est rappelé en annexe VI.5.

II.4.1. Principe de migration des ions

L'électrophorèse capillaire permet la migration d'espèces ioniques dans un électrolyte au sein d'un capillaire, sous l'influence d'un champ électrique. Chaque espèce migre à une vitesse qui lui est propre, en fonction de son rapport charge/taille. La force électrostatique F_E qui s'applique sur un ion i en solution est proportionnelle au champ électrique E appliqué à la solution :

$$\vec{F}_E = z_i \cdot e \cdot \vec{E} \quad (\text{Eq. 4})$$

avec \vec{F}_E force électrostatique appliquée à l'ion i
 z_i charge de l'ion
 e charge élémentaire ($= 1,6 \cdot 10^{-19} \text{C}$)
 \vec{E} intensité du champ électrique ($\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$)

Sous l'effet de la force électrostatique, l'ion est accéléré et commence à migrer, ce qui induit des forces de frottement au sein de la solution, qui sont proportionnelles à la vitesse de l'ion. L'équation de Stokes lie la force de frottement \vec{F}_F et la vitesse de l'ion i dans le cas d'un ion sphérique :

$$\vec{F}_F = 6\pi \cdot \eta \cdot r_i \cdot \vec{v}_i \quad (\text{Eq. 5})$$

avec : F_F force de frottement appliquée à l'ion i
 η viscosité dynamique du milieu ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)
 r_i rayon (de Stokes) de l'ion i
 \vec{v}_i vitesse de l'ion i

La mobilité électrophorétique est donc proportionnelle au rapport charge / taille de l'ion considéré. Le rayon de Stokes r_i s'obtient par la formule suivante :

$$r_i = \frac{k_B T}{6\pi\eta} \quad (\text{Eq. 6})$$

avec : k_B constante de Boltzmann ($\approx 1,38 \cdot 10^{-23} \text{J} \cdot \text{K}^{-1}$)
 T température
 η viscosité de l'électrolyte

II. Méthodes analytiques

Après une courte période de transition, pendant laquelle l'ion accélère, les forces électrostatique \vec{F}_F et de frottement \vec{F}_E , de sens opposé, se compensent, et la vitesse de l'ion se stabilise à une valeur constante. Les vitesses de migration sont de l'ordre de quelques millimètres par seconde.

On peut donc caractériser chacune des espèces par leur vitesse de migration v_i que l'on exprime simplement en fonction de temps de migration t_i et de la distance l de l'injection à la fenêtre UV :

$$v_i = \frac{l}{t_i} \quad (\text{Eq. 7})$$

La vitesse de migration est le résultat de la combinaison de la vitesse d'entraînement globale de l'électrolyte dans le capillaire de silice, la vitesse électroosmotique \vec{v}_{eo} , et de la vitesse de migration propre à l'ion i , la vitesse électrophorétique \vec{v}_{ep} .

$$\vec{v}_i = \vec{v}_{eo} + \vec{v}_{ep} \quad (\text{Eq. 8})$$

Le vecteur vitesse électrophorétique est par conséquent toujours dirigé vers la borne électrique de signe opposé à celui de l'ion. Toutefois, les conditions d'analyse sont généralement telles que la vitesse électroosmotique est supérieure à la vitesse électrophorétique [71], et ainsi, cations, anions et espèces neutres migrent dans le même sens comme l'illustre la figure 21 ci-dessous :

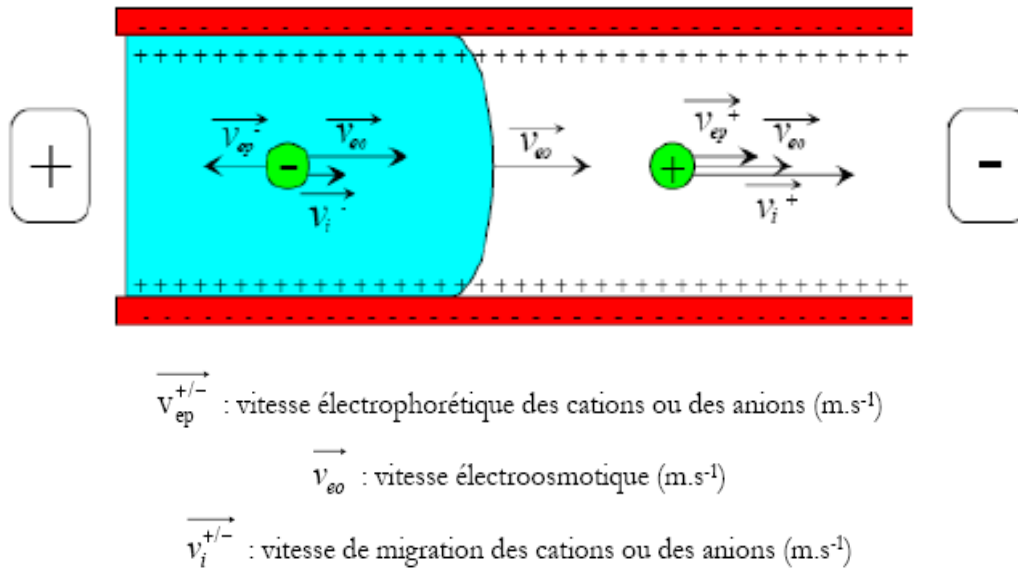


Figure 21 : Schéma de principe du déplacement des ions en EC [10,18].

Un choix judicieux des conditions d'analyse va permettre d'obtenir une vitesse électroosmotique suffisante pour détecter dans la même analyse les cations (temps de

II. Méthodes analytiques

migration faible), l'ensemble des espèces neutres, qui sont détectées sous forme d'un pic unique, et les anions (temps de migration élevé).

II.4.2. Vitesse et mobilité électroosmotiques [71]

La vitesse électroosmotique est la conséquence d'un phénomène de transport des molécules de solvant, suite à l'interaction entre le champ électrique et la double couche ionique à l'interface solide-solution (figure 22). Les capillaires les plus couramment utilisés sont des tubes de silice fondue, porteurs sur leur surface interne de sites silanols susceptibles de s'ioniser négativement selon le pH de l'électrolyte. Il y a accumulation des charges positives à l'interface solide-liquide, avec la formation d'une sous-couche statique de cations adsorbés et d'une couche plus diffuse de cations mobiles.

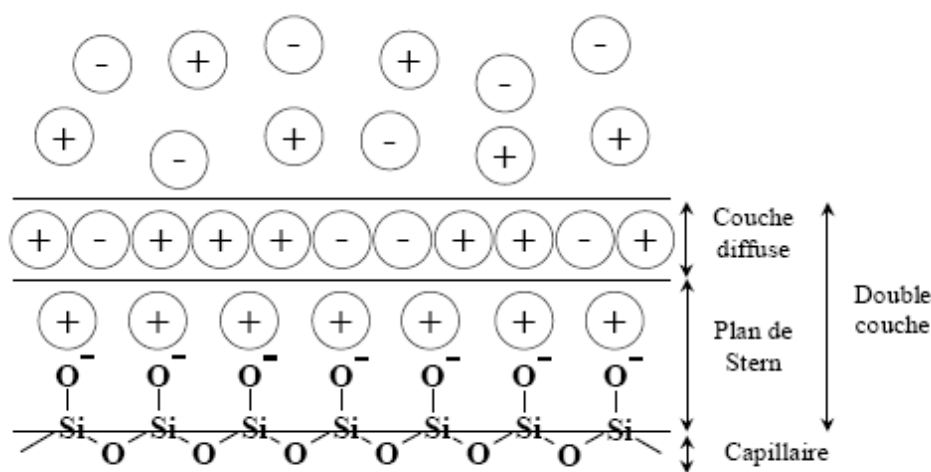


Figure 22 : Représentation schématique de la double couche ionique à l'interface électrolyte-capillaire [72].

Lors de l'application d'un champ électrique \vec{E} parallèle à cette interface, les charges électriques excédentaires dans le liquide se mettent en mouvement, entraînant les molécules du solvant. Il en résulte un écoulement à vitesse linéaire \vec{v}_{eo} proportionnelle au champ électrique \vec{E} . La relation de Helmholtz-Smoluchowski [72] permet de décrire ce phénomène :

$$\vec{v}_{eo} = -\frac{\epsilon_r \epsilon_o \zeta}{\eta} \vec{E} \quad (\text{Eq.9})$$

avec : \vec{v}_{eo} vitesse électroosmotique
 $\epsilon_r \epsilon_o$ constante diélectrique du milieu ($\text{C}^2 \cdot \text{J}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$)
 η viscosité dynamique du solvant ($\text{Pa} \cdot \text{s}$)

II. Méthodes analytiques

ζ	potentiel zêta (V)
E	intensité du champ électrique (V.m ⁻¹)

On définit le potentiel zêta, lié à la densité de charge surfacique q_s et à l'épaisseur de la double couche électrique δ (autrement nommée longueur de Debye), par la relation :

$$\zeta = \frac{\delta q_s}{\epsilon_r \epsilon_0} \quad (\text{Eq.10})$$

C'est la différence de potentiel existant de part et d'autre de l'interface capillaire-électrolyte.

A partir des équations 9 et 10, on peut réécrire :

$$\vec{v}_{eo} = -\frac{\delta \sigma}{\eta} \vec{E} = \mu_{eo} \vec{E} \quad (\text{Eq.11})$$

où on voit apparaître la mobilité électroosmotique μ_{eo} (en m².V⁻¹.s⁻¹).

L'écoulement électroosmotique est donc proportionnel à la densité de charge surfacique. Il s'écoule dans le sens du champ \vec{E} lorsque le capillaire est porteur de charges négatives ($q_s < 0$) et dans le sens opposé quand $q_s > 0$. On peut aisément le mesurer à partir de la vitesse électroosmotique (cf Eq. 11), elle-même facilement calculable à partir du temps de migration t_0 d'un marqueur neutre (acétone, méthanol, éthanol, diméthylsulfoxyde ou diméthylformamide, etc...). En effet, en combinant l'équation 7 appliquée à un marqueur neutre et l'équation 11, on obtient :

$$\mu_{eo} = \frac{l}{E \cdot t_{eo}} = \frac{L \cdot l}{U \cdot t_{eo}} \quad (\text{Eq.12})$$

avec l désignant la longueur du capillaire jusqu'à la fenêtre de détection, L la longueur totale du capillaire et U la tension appliquée aux bornes du capillaire.

II.4.3. Mobilité électrophorétique

Sur le même modèle que précédemment, on définit la mobilité électrophorétique $\mu_{ep,i}$ par le rapport entre la vitesse électrophorétique $v_{ep,i}$ et le champ électrique appliqué E , et on peut la calculer en combinant les équations 4 et 5

II. Méthodes analytiques

car à vitesse constante, l'accélération est nulle et donc les forces électrique et de frottement se compensent :

$$\mu_{ep,i} = \frac{|\vec{v}_{ep,i}|}{|\vec{E}|} = \frac{z_i}{r_i} \cdot \frac{e}{6\pi\eta} \quad (\text{Eq.13})$$

Ce type de transport par électromigration s'effectue dans le sens du vecteur \vec{E} pour les cations et dans le sens inverse pour les anions. La mobilité électrophorétique d'une espèce i , notée $\mu_{ep,i}$, dépend principalement de la charge et de la taille de l'espèce : la mobilité dépend donc indirectement du pH de l'électrolyte, de la présence d'agents complexants, de la force ionique et de la nature du solvant. Elle augmente avec la température d'environ 2% par degré [73].

Lorsque l'espèce i existe sous différentes formes ioniques j en équilibre, la mobilité électrophorétique effective $\mu_{ep,i}$ s'exprime en fonction des mobilités $\mu_{ep,j}$ de chacune des formes ioniques et de leur fraction molaire α_j selon l'expression :

$$\mu_{ep,i} = \sum_j \alpha_j \mu_{ep,j} \quad (\text{Eq.14})$$

Les mobilités électrophorétique absolues (i.e. à dilution infinie et à 25°C) de nombreux ions sont référencées dans la littérature, elles peuvent en outre être calculées à partir des conductivités ioniques équivalentes à dilution infinie à 25°C [72] :

$$\mu^\circ = \frac{\lambda^\circ}{F} \quad (\text{Eq. 15})$$

avec : μ° mobilité électrophorétique à $I = 0$ et $T = 25^\circ\text{C}$
 λ° conductivité ioniques à $I = 0$ et $T = 25^\circ\text{C}$
 F constante de Faraday ($\approx 96500 \text{ C.mol}^{-1}$)

II.4.4. Mobilité apparente

La vitesse de migration apparente de l'ion i $\mu_{app,i}$ est la somme des vitesses électrophorétique et électroosmotique. Il en est de même des mobilités, car $v = \mu E$:

$$\mu_{app,i} = \mu_{ep,i} + \mu_{eo} \quad (\text{Eq. 16})$$

L'équation 7 s'applique à la vitesse apparente pour donner :

II. Méthodes analytiques

$$v_{app,i} = \frac{l}{t_{app,i}} \quad (\text{Eq.17})$$

où $t_{app,i}$ est le temps de migration apparent de l'ion i , mesuré par le détecteur.

On en déduit une expression similaire pour la mobilité apparente :

$$\mu_{app,i} = \frac{L \cdot l}{U t_{app,i}} \quad (\text{Eq. 18})$$

Cette équation est utilisée pour déterminer la mobilité apparente de l'ion i à partir de son temps de migration. La mobilité électrophorétique de l'ion i se calcule en soustrayant la mobilité électroosmotique à la mobilité apparente de cet ion. L'équation suivante résume ces considérations :

$$\mu_{ep,i} = \frac{L \cdot l}{U} \left(\frac{1}{t_i} - \frac{1}{t_{eo}} \right) \quad (\text{Eq. 19})$$

II.4.5. L'électrolyte support

L'électrolyte support (BGE, « background electrolyte » en anglais) a pour rôles principaux d'assurer le transport du courant électrique et de maintenir les mobilités ioniques et le flux électroosmotique constants.

II.4.5.1. Transport du courant électrique

Au cours d'une séparation électrophorétique, le capillaire est rempli d'électrolyte support, afin d'assurer le transport du courant électrique lors de l'application d'une tension à ses deux extrémités. La conductivité K de l'électrolyte s'obtient par la formule :

$$\Lambda = F \cdot \sum_{i=1}^n C_i |z_i \mu_i| \quad (\text{Eq. 20})$$

avec : Λ conductivité de l'électrolyte (en $\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$)
F constante de Faraday
 C_i concentration en ion i
 z_i charge de l'ion i

II. Méthodes analytiques

La totalité du capillaire est remplie avec le même électrolyte, de manière à conserver les paramètres du système constants sur toute la longueur du capillaire : conductivité, intensité du champ électrique, température et pH.

II.4.5.2. Répétabilité des analyses par EC

Une bonne répétabilité des analyses peut être obtenue à condition de maintenir les temps de migration et le flux électroosmotique constants. C'est pourquoi il est important de maîtriser certains paramètres qui influencent particulièrement les mobilités électrophorétiques et électroosmotique : le pH, la force ionique, la nature du capillaire, la concentration des éventuels modificateurs organiques ou agents complexants...

II.4.5.2.1. EFFET DU pH ET DE LA NATURE DU CAPILLAIRE

La figure 23 montre l'effet du pH de l'électrolyte sur le flux électroosmotique à force ionique constante ($I = 0,06 \text{ mol.L}^{-1}$) pour différents matériaux de capillaire (pyrex, silice fondue et téflon).

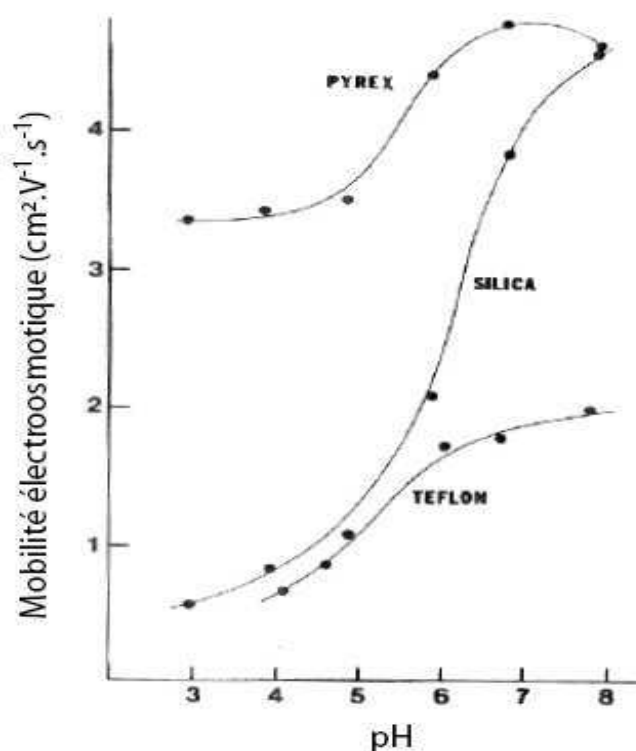


Figure 23 : Effet du pH de l'électrolyte sur la mobilité électroosmotique pour différents types de capillaires [74] ($I = 0,06 \text{ mol.L}^{-1}$; $L_{\text{tot}} = 50 \text{ cm}$) ; pyrex et silice fondue : diamètre interne $75 \mu\text{m}$; téflon $120 \mu\text{m}$.

Sur l'ensemble de la gamme de pH, les capillaires testés présentent un potentiel zêta négatif (le flux électroosmotique est dirigé vers la cathode), le téflon

II. Méthodes analytiques

ayant les plus petites valeurs d'EOF. Le potentiel zêta négatif peut être attribué, pour le pyrex et la silice fondue, à la présence de groupements ionisables de surface intrinsèques au matériau, tandis que pour le téflon, il s'agit de l'adsorption d'ions hydroxyle ou d'autres anions sur les parois du capillaire [74].

On remarque également que le flux électroosmotique augmente avec le pH pour tout type de matériau. Ce phénomène provient de la déprotonation à pH élevé des groupements anioniques présents à la surface du capillaire, ce qui se traduit par une densité surfacique de charges plus grande et donc un potentiel zêta plus élevé.

II.4.5.2.2. EFFET DE LA FORCE IONIQUE

La figure 24 ci-dessous présente l'effet de la force ionique sur la mobilité électroosmotique dans un capillaire de silice fondue à pH fixe.

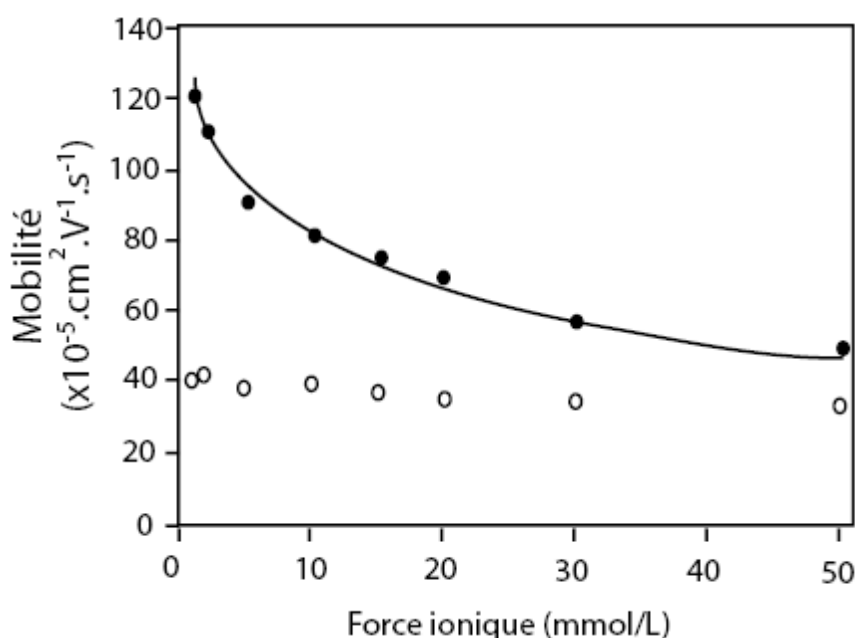


Figure 24 : Effet de la force ionique de l'électrolyte sur la mobilité électroosmotique dans un capillaire de silice fondue.

pH = 8,6 ;

• : diméthylformamide [10];

o : acide sulfonique-1-hydroxy-naphtalène [72]

La force ionique modifie le flux électroosmotique : augmenter la force ionique de l'électrolyte mène à un potentiel zêta négatif plus faible en valeur absolue, et ainsi (cf (Eq.10)) à un flux électroosmotique plus faible.

II. Méthodes analytiques

II.4.5.2.3. EFFET DES MODIFICATEURS ORGANIQUES

L'adsorption des analytes sur les parois du capillaire est un problème fréquent, particulièrement lors de l'analyse de protéines ou de formes hydrolysées d'actinides, qui peut conduire à l'élargissement des pics, à une mauvaise répétabilité temporelle [75] ou à une perte d'échantillon [76].

Afin de limiter ces phénomènes d'adsorption, l'ajout d'un modificateur a été envisagé. Plusieurs approches sont possibles pour modifier ou protéger la charge de surface des parois du capillaire et par conséquent en réduire les interactions avec les espèces à séparer. On peut citer par exemple les polymères formant des liaisons covalentes [77], les polymères cationiques adsorbés [78] ou les surfactants adsorbés [79-82]. Le traitement dynamique des capillaires par des surfactants constitue une alternative simple et réversible aux traitements par adsorption covalente de polymères. Les bromures de tétradécyl triméthylammonium (C_{14} TAB), de cétyle triméthylammonium (C_{16} TAB) et d'octadécyltriméthylammonium (C_{18} TAB) [79] sont des surfactants à simple chaîne couramment utilisés dans cette optique (figure 25a). A une concentration supérieure à la concentration micellaire critique (cmc), ces surfactants s'adsorbent de manière réversible sur les sites chargés négativement du capillaire, inversant ainsi la charge de surface et donc le sens du flux électroosmotique. Cependant, la cmc étant dépassée, il se forme des micelles dans l'électrolyte, qui peuvent interagir avec les analytes et perturber les séparations. Certains auteurs ont aussi utilisé des surfactants zwitterioniques, comme le Rewoteric AM CAS U (Witco) [80], qui agissent de la même manière que les CTAB, en inversant le flux électroosmotique à partir d'une certaine concentration dans l'électrolyte. Il existe d'autre part des surfactants à double chaîne, comme le bromure de didodécyl diméthylammonium bromide (DDAB) [81], qui s'agrègent en solution pour former une double couche voire même des vésicules (figure 25b). Ce type de composé peut être utilisé en prétraitement, car son adsorption sur les parois du capillaire est extrêmement stable (cf figure 26).

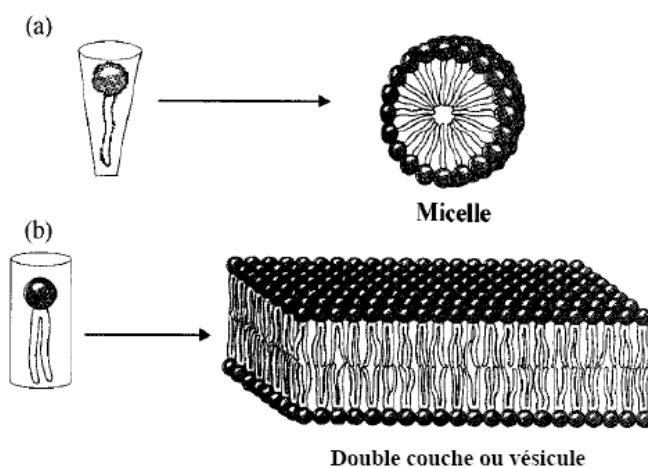


Figure 25: Schéma de structure de (a) surfactants à simple chaîne et (b) surfactants à double chaîne [10].

II. Méthodes analytiques

La figure 26 suivante présente l'évolution du flux électroosmotique inversé pour le C₁₆TAB et le DDAB, mesuré par injections successives d'un marqueur neutre, après tapissage initial du capillaire, et sans rinçage intermédiaire.

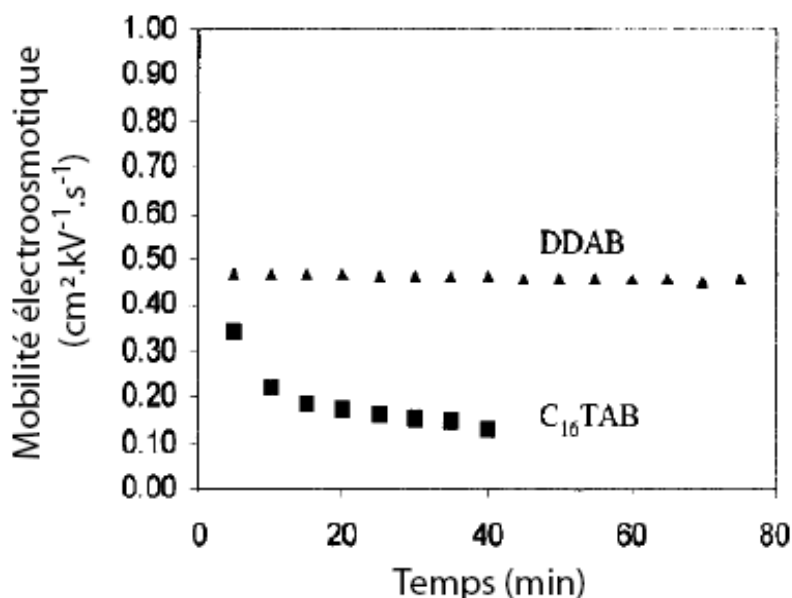


Figure 26 : Stabilité du traitement dynamique de la surface du capillaire avec le C₁₆TAB et le DDAB [82].

L'inversion du flux électroosmotique générée par les surfactants à double chaîne permet d'adapter les conditions de séparation à l'étude de complexes anioniques d'actinides, très fréquents dans l'environnement (par exemple, complexation par les ions carbonates ou sulfates...). L'effet principal est d'inverser le flux électroosmotique, ce qui inverse l'ordre de sortie des ions. Ceci permet d'obtenir les temps de migration les plus courts pour les espèces anioniques.

Plus particulièrement dans le cas de l'uranium, différents surfactants sont envisageables dans le but de limiter la tendance à l'adsorption de l'ion uranyle sur les parois du capillaire de silice, que l'on peut vraisemblablement attribuer [83] à la formation de différents complexes de surface (à pH compris entre 4 et 9, on trouve principalement $\equiv\text{SiO}_2\text{UO}_2$, $\equiv\text{SiO}_2\text{UO}_2\text{OH}^-$ et $\equiv\text{SiO}_2\text{UO}_2\text{OHCO}_3^{3-}$) de sphère interne, ce qui traduit une forte affinité de l'ion uranyle pour les fonctions silanol. Généralement, l'adsorption est quantitative pour un pH supérieur à 6,5 [83], étant donné que le point de charge nulle de la silice se situe autour de 3,5 [84]. Outre le DDAB, la littérature fournit l'exemple du Carbowax 20M [85-87], utilisé de la même manière que le DDAB en prétraitement. Le Carbowax 20M permet d'obtenir une réduction conséquente du flux électroosmotique et empêche l'adsorption de l'uranium, du thorium et du lanthane sur les parois du capillaire en silice fondue [85].

II. Méthodes analytiques

II.4.5.2.4. EFFET JOULE

L'électrolyte support doit également limiter l'échauffement du capillaire par effet Joule lors de l'application du champ électrique. La puissance appliquée au capillaire ne doit pas excéder $0,5 \text{ W.m}^{-1}$, quand cela est possible, afin d'éviter une augmentation de température de plus de 1 K [72]. Il est donc recommandé d'utiliser des électrolytes supports peu conducteurs, qui ne permettent de faire circuler que de faibles courants. Si la conductivité de l'électrolyte est trop élevée, la chaleur produite par effet Joule ne pourra plus être évacuée par le système de refroidissement, ce qui va élargir les pics de l'électrophorégramme et dégrader la résolution [88].

II.4.5.2.5. SUPPORT DE LA DETECTION

Le rôle de l'électrolyte va être différent selon le mode de détection. En détection UV/vis. directe, l'électrolyte support joue le rôle de blanc, alors qu'en détection UV/vis. indirecte, la présence d'analytes se traduit par une diminution du signal de l'électrolyte. Ainsi, si les analytes absorbent dans l'UV/vis., on utilise un électrolyte support transparent à la longueur d'onde d'intérêt en mode de détection directe. Si, en revanche, ils n'absorbent pas de manière significative dans l'UV/vis., on emploiera un électrolyte support absorbant à au moins une longueur d'onde. Le déplacement des ions chromophores par les analytes permettra leur détection.

II.5. Couplage EC-ICPMS

II.5.1. Généralités

Le couplage de l'électrophorèse capillaire avec la spectrométrie de masse est actuellement une technique en plein essor, avec par exemple comme objectif l'accès à la spéciation des éléments d'intérêt dans des milieux complexes (environnement, agroalimentaire...). Les échantillons sont le plus fréquemment ionisés par un électrospray, afin d'accéder à un maximum d'informations structurales sur les complexes formés, mais d'autres systèmes d'ionisation sont aussi employés. Une interface située entre l'électrophorèse capillaire et le spectromètre de masse permet de transporter l'échantillon, de fermer le circuit électrique de l'EC et d'adapter le débit de sortie du capillaire (de 1 à 100 nL.min^{-1}) au débit d'entrée du spectromètre (de 20 à $1000 \text{ } \mu\text{L.min}^{-1}$). Une telle interface est le plus souvent à débit liquide coaxial, et dans ce cas, le liquide additionnel, en contact avec une électrode d'acier inoxydable ou de platine, baigne le capillaire ; la jonction électrique est réalisée à l'extrémité du capillaire, au niveau de la zone de mélange entre le liquide additionnel et l'électrolyte de l'EC. La géométrie de l'interface est déterminante pour la stabilité du spray et pour le rendement d'ionisation.

II. Méthodes analytiques

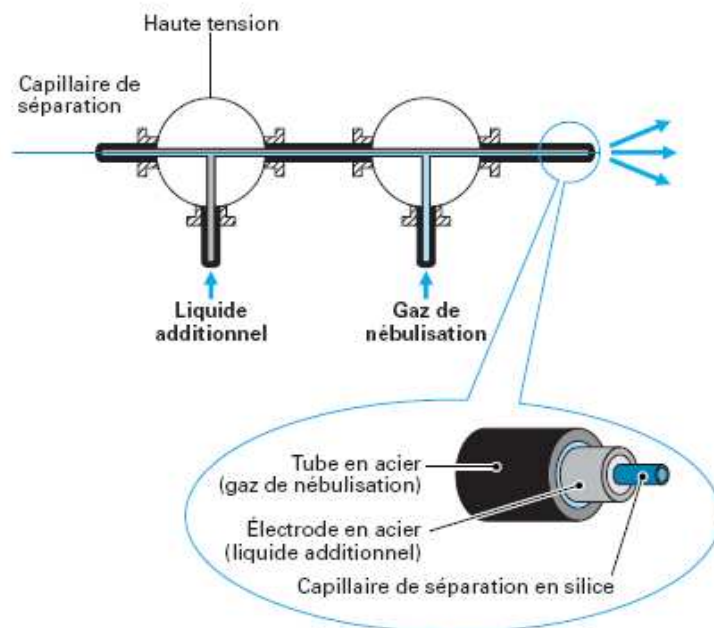


Figure 27 : Schéma de principe d'une interface EC-ICPMS à débit coaxial [18].

Des limites de détection 100 fois plus basses qu'en détection UV/vis. peuvent être atteintes, bien que le contenu du capillaire de séparation soit dilué dans le liquide de compensation, ce qui induit une perte de sensibilité. Les tampons classiques (phosphate, borate...) sont exclus, car ils contaminent la chambre d'ionisation du spectromètre de masse et engendrent une suppression du signal des analytes en cours d'expérience.

II.5.2. Principales difficultés

Généralement, les études de spéciation portent sur des échantillons complexes, mélanges de différents composés de rapports charge/taille pouvant être très proches. Il s'avère donc indispensable d'utiliser une interface qui préserve le bon pouvoir séparatif de l'électrophorèse capillaire dans la configuration couplée avec l'ICPMS. A ce titre, quelques difficultés majeures doivent être surmontées lors de l'installation du système de couplage :

- les performances propres à chaque appareil doivent être conservées malgré l'incompatibilité des débits nominaux : l'électrophorèse capillaire travaille à un débit de l'ordre de $0,1 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, tandis que l'ICPMS nécessite classiquement un débit supérieur à $20 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$.
- la seconde difficulté est due au principe de fonctionnement de l'électrophorèse capillaire, qui impose la fermeture du circuit électrique aux extrémités du capillaire.

II. Méthodes analytiques

- l'effet de succion du au nébuliseur doit être limité, afin d'éviter la création d'un flux laminaire au sein du capillaire.
- les volumes morts doivent être soigneusement réduits, pour conserver une bonne résolution aux pics électrophorétiques.

II.5.3. Les interfaces EC-(ICP)MS dans la littérature

On rencontre dans la littérature principalement deux types de fonctionnement de l'interface EC-(ICP)MS. Soit le capillaire est directement connecté au nébuliseur du spectromètre de masse [89,90], soit il est connecté à une interface en T permettant l'ajout d'un liquide de compensation [19,91,92].

Le point crucial pour l'emploi de l'électrophorèse capillaire en mode couplé réside dans la fermeture électrique. En configuration classique, avec détection spectrophotométrique, la fermeture du circuit est assurée par le fait que les extrémités du capillaire trempent dans les réservoirs d'électrolyte, eux-mêmes mis sous tension par deux électrodes qui plongent dans le liquide. En mode couplé, la fin du capillaire est positionnée en entrée de nébuliseur, et non dans le réservoir de sortie. La problématique du couplage de l'électrophorèse capillaire réside, dans ces conditions, à mettre en contact l'électrolyte en sortie de capillaire avec la masse du circuit électrique, la tension étant appliquée en entrée de capillaire via le réservoir d'électrolyte.

Deux solutions sont proposées dans la littérature. La première [19,91,92] utilise un liquide de compensation du débit d'injection, ayant des propriétés conductrices et faisant la jonction entre un contacteur électrique relié à la masse de l'appareil, en amont du nébuliseur, et l'électrolyte sortant du capillaire, comme la figure 2 ci-dessous l'illustre. Le mélange entre le liquide de compensation et l'électrolyte issu du capillaire ferme ainsi le circuit électrique.

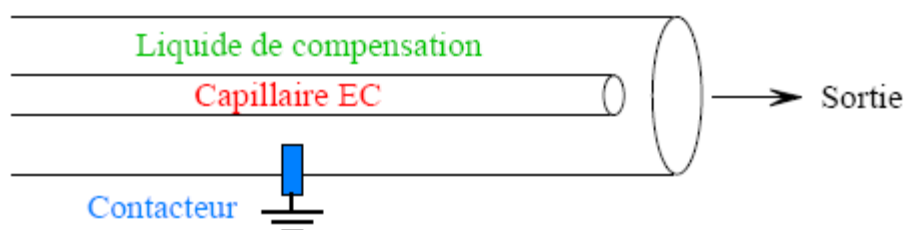


Figure 28 : Fermeture du circuit électrique par ajout d'un liquide de compensation [93].

II. Méthodes analytiques

La deuxième solution [89,90] consiste, en absence de liquide de compensation, à fermer le circuit à la sortie du capillaire grâce à un élément métallique, relié à la masse de l'appareil, que l'on introduit directement dans le nébuliseur au niveau de la sortie du capillaire. Ce dispositif, schématisé figure 29, peut aussi bien être constitué par un fil de platine ou une peinture d'argent déposée à l'extrémité du capillaire.

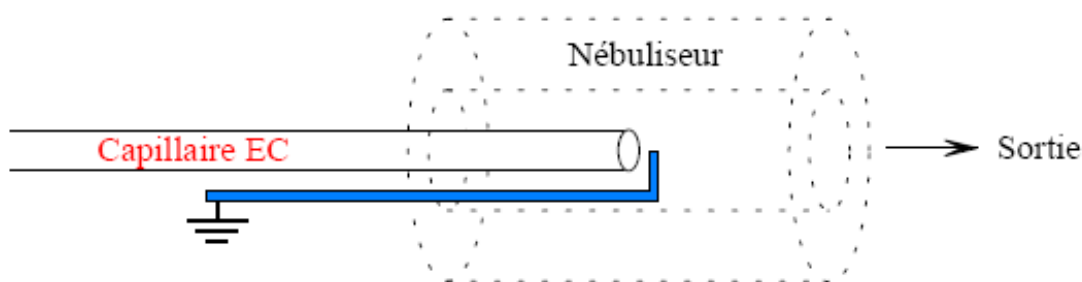


Figure 29 : Connexion électrique réalisée par un fil métallique [93].

Cette deuxième géométrie est clairement plus délicate à mettre en œuvre : le montage est fragile et l'usure des éléments métalliques conduit à des problèmes d'interférences ou de réactions chimiques parasites, ainsi qu'une augmentation du bruit de fond pour certaines masses. Qui plus est, la dépression générée par les nébuliseurs en fonctionnement (appelée parfois aspiration naturelle) va produire un effet de succion du liquide contenu dans le capillaire, perturbant ainsi la séparation. Le faible débit de l'électrophorèse capillaire conduira à une nébulisation pulsée, incompatible avec les critères de performance requis (en termes de stabilité du signal). De ce fait, le système avec ajout d'un liquide de compensation semble le plus opérationnel.

Finalement, le liquide de compensation standard, dans les publications étudiées, est principalement constitué d'acide nitrique dilué (1 à 2 %), éventuellement additionné d'un étalon interne (In, Y ou Bi) permettant de suivre en temps réel le débit de nébulisation. Il est intéressant de noter que la composition du liquide de compensation n'a pratiquement pas d'incidence sur la spéciation de l'échantillon car la dilution de celui-ci intervient après passage à travers le capillaire de séparation.

II. Méthodes analytiques

II.5.4. Les différents types de nébuliseurs

Depuis le premier couplage EC-ICPMS décrit par Olesik et al. en 1995 [94], diverses interfaces, basées sur différents principes de nébulisation, ont été proposées. Le tableau 5 présente les caractéristiques de différents nébuliseurs qui ont été utilisés dans le cadre du couplage EC-ICPMS.

Type de nébuliseur	Débit ($\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$)	Efficacité de nébulisation (%)	Références bibliographiques
Nébuliseur concentrique	500 - 4000	1 - 4	[94,95]
Nébuliseur ultrasonique	500 - 2500	20	[96]
Nébuliseur haute efficacité (HEN)	10 - 1000	10 - 20	[97]
Micro-nébuliseur concentrique (PFA-50)	50	1 - 4	[19]
Nébuliseur à injection directe (DIN)	100	100	[92,98]
Nébuliseur à injection directe haute efficacité (DIHEN)	85	100	[92]
Oscillating capillary nebulizer	1 - 2000	100 (à bas débits)	[99]
Nébuliseur parallèle (Mira Mist CE)	1 - 10	100	[100]
MCN 100	10	100	[101,102]
CEI 100	6	100	[103]

Tableau 5 : Caractéristiques de différents nébuliseurs utilisés pour le couplage EC-ICPMS.
[10]

Ce tableau illustre les évolutions dans la conception de l'interface. La plupart des interfaces utilisent un liquide de compensation, coaxial et introduit dans l'interface par l'intermédiaire d'une pièce en T, permettant à la fois de fermer le circuit électrique (grâce au mélange avec l'électrolyte) et d'adapter le débit de l'EC à l'ICPMS [19,92,94,97,98,103]. Le tableau 5 souligne le travail mené pour diminuer le débit nominal des nébuliseurs, et ainsi minimiser cette dilution post-colonne.

II. Méthodes analytiques

Les premiers couplages étaient basés sur le principe des nébuliseurs concentriques ou « cross-flow », qui fonctionnent à des débits élevés et avec une efficacité de nébulisation limitée, conduisant à une faible sensibilité [19,94,95]. Il s'est rapidement avéré nécessaire de développer des nébuliseurs à bas débit et à efficacité maximale pour optimiser l'interface EC-ICPMS : les nébuliseurs micro-concentriques tel que le Meinhard haute efficacité (HEN) [97] ou le MCN 100 [101,102] sont nés de cette attente. Ils peuvent fonctionner à $1 \mu\text{L}.\text{min}^{-1}$ avec une efficacité de transport de près de 100%. L'effet de succion du capillaire par le nébuliseur et les volumes morts ont été minimisés par l'emploi du nébuliseur à injection directe (DIN) [92,98] et du nébuliseur à injection directe haute efficacité (DIHEN) [92], qui permettent d'introduire directement l'aérosol dans le plasma (sans chambre de nébulisation), tout en conservant d'excellentes propriétés de nébulisation à bas débit. La faible désolvatation des gouttelettes de solvant entraîne toutefois l'instabilité du plasma. Parallèlement aux nébuliseurs commerciaux, de nombreux laboratoires ont développé leur propre matériel : un nébuliseur oscillant capillaire (OCN) a ainsi été modifié [99], de même que le micronébuliseur [103], afin d'en augmenter l'efficacité et d'en diminuer le débit nominal.

Il a aussi été envisagé d'appliquer une pression négative dans le flacon de séparation contenant l'électrolyte à l'entrée du capillaire, afin de contrebalancer la succion due au nébuliseur [94]. Néanmoins, cette astuce nécessite une régulation très fine de la pression appliquée, rendue très difficile par l'instabilité inhérente à l'effet Venturi du nébuliseur. Quelques publications décrivent l'emploi d'un fritté sol-gel dans le capillaire pour réduire le flux laminaire créé par la succion du nébuliseur [104]. La plupart des interfaces utilisent le liquide de compensation introduit par une pompe dans l'interface [92] ou grâce à l'aspiration naturelle du nébuliseur [19,98,101]. L'article de revue écrit par Kannamkurath en 2002 présente de manière détaillée diverses interfaces EC-ICPMS [3].

Les développements instrumentaux les plus récents, comme ceux proposés par Bürgener Research (Mississauga, ON, Canada) ou Schlaumlöffel et al. [105], permettent de résoudre le problème d'élargissement des pics par l'optimisation du comportement des fluides dans l'interface. L'interface développée par Schlaumlöffel et al. (commercialisée depuis par Cetac Technologies sous le nom de CEI 100) permet également d'ajuster le niveau du liquide de compensation à celui du point d'injection de l'électrophorèse capillaire, afin d'éviter le siphonage du capillaire. Une chambre de nébulisation de faible volume est utilisée avec cette interface, toujours dans le but de minimiser les volumes morts et de diminuer les temps de rinçage. Il en est de même pour le système utilisé au cours de la thèse, basée sur l'interface Mira Mist CE (Bürgener Research), cf annexe VI.2.4. Cette interface met en œuvre un nébuliseur à flux parallèles permettant de remplir les critères mentionnés au paragraphe II.5.2. : adaptation des débits par un liquide de compensation, fermeture électrique, effet de succion très limité et minimisation des volumes morts.

II. Méthodes analytiques

II.5.5. La double détection

Comme présenté précédemment (Eq. 16), la mobilité apparente d'un ion i est la somme des contributions électrophorétiques et électroosmotiques. Lorsque la détection de l'analyte en électrophorèse capillaire est réalisée grâce à un spectrophotomètre UV/vis., on peut écrire :

$$\mu_{ep,i} = \frac{L \cdot l}{V} \left(\frac{1}{t_i^{UV}} - \frac{1}{t_{eo}^{UV}} \right) \quad (\text{Eq. 21})$$

où l représente la longueur de capillaire jusqu'au détecteur UV/visible et L sa longueur totale.

En mode couplé, la détection est réalisée à l'extrémité du capillaire par l'ICPMS :

$$\mu_{ep,i} = \frac{L^2}{V} \left(\frac{1}{t_i^{ICPMS}} - \frac{1}{t_{eo}^{ICPMS}} \right) \quad (\text{Eq. 22})$$

Or, les marqueurs neutres utilisés en EC-UV sont généralement de petites molécules organiques (acétone, diméthylformamide, diméthylsulfoxyde...), qui ne peuvent pas être détectées par l'ICPMS. Une méthode consiste en l'ajout d'un élément métallique de mobilité connue à l'échantillon, et la mobilité électrophorétique de l'ion i est ainsi calculée en fonction de l'élément métallique de référence suivant la formule :

$$\mu_{ep,i} = \mu_{ep,ref} + \frac{L^2}{V} \left(\frac{1}{t_i^{ICPMS}} - \frac{1}{t_{ref}^{ICPMS}} \right) \quad [106] \quad (\text{Eq. 23})$$

Néanmoins, l'introduction de cations métalliques au sein de l'échantillon n'est pas anodine et peut mener à des erreurs d'interprétations des résultats. En effet, le marqueur métallique, supposé inerte vis-à-vis du milieu, voit sa mobilité modifiée par l'interaction avec celui-ci, par exemple par complexation. Les mobilités calculées sont alors fausses car basées sur une valeur erronée de mobilité de l'élément de référence.

Pour parer à cette méthode intrusive, la double détection, alliant la spectrophotométrie UV/vis. et l'ICPMS, a été mise au point dans le cadre de la thèse de Chrystel Ambard [10]. Dans cette méthode, le détecteur spectrophotométrique permet de mesurer le temps de migration du marqueur neutre jusqu'à la fenêtre de détection et l'ICPMS permet de mesurer le temps de migration de l'ion i à analyser.

II. Méthodes analytiques

La mobilité électrophorétique de l'ion i est donc calculée grâce à la formule suivante :

$$\mu_{ep,i} = \frac{L}{V} \left(\frac{L}{t_{i}^{ICPMS}} - \frac{l}{t_{eo}^{UV}} \right) \quad (\text{Eq. 24})$$

Un schéma de l'appareillage employé pour la détection est donné ci-dessous :

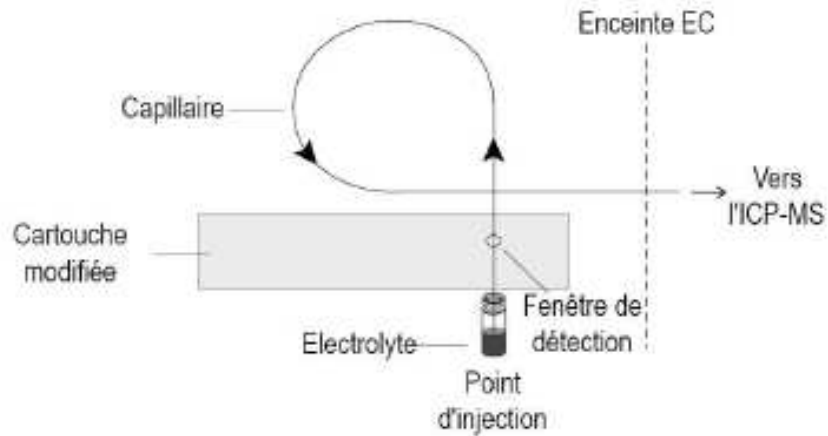


Figure 30 : Schéma de l'appareillage utilisé pour la double détection [13].

*III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples
par LC-ICPMS*

**III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides
organiques simples par LC-ICPMS**

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

L'étude de la complexation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS a été menée en plusieurs étapes : d'abord, une courte revue de la littérature concernant la séparation d'acides organiques simples et de leurs complexes métalliques par chromatographie liquide a permis d'orienter les expérimentations vers certains principes chromatographiques. Ensuite, la présence des complexes étudiés dans les échantillons a été vérifiée par spectrophotométrie UV/vis. Enfin, les analyses menées par LC-ICPMS ont permis de déterminer quelques couples phase stationnaire / phase mobile adaptés à la séparation d'acides organiques. Ces méthodes ont finalement été appliquées aux échantillons contenant les complexes uranyle-acides organiques (uranyle-oxalate principalement).

III.1. Séparation d'acides organiques simples et de leurs complexes métalliques par chromatographie liquide : état de l'art

Plusieurs techniques analytiques sont classiquement associées à l'analyse des acides organiques simples dans les échantillons naturels de différentes provenances. Mato et al. ont ainsi listé, dans une revue sur l'analyse des acides organiques dans le jus de raisin et le vin [107], les principales techniques analytiques utilisées, qui se trouvent être communes aux différents types d'échantillons : spectrophotométrie, méthodes enzymatiques, chromatographie sur couche mince, chromatographie gazeuse, électrophorèse capillaire et chromatographie liquide. La détection se fait généralement par spectrophotométrie UV/vis. mais une détection conductimétrique ou électrochimique peut aussi être envisagée.

En chromatographie liquide, on procède généralement à un prétraitement (par passage sur une phase stationnaire échangeuse de cations) visant à supprimer les sucres ou les colorants présents et/ou l'échantillon est dilué puis filtré. Ceci permet d'éviter les interférences avec les ions analysés (petits acides organiques) et de ne pas saturer les groupements fonctionnels des phases stationnaires utilisées.

Trois types de phases stationnaires sont majoritairement utilisés pour l'analyse de petits acides organiques dans des matrices naturelles : les phases inverses [41,108-110], les échangeurs d'ions [111-114] et les colonnes d'exclusion d'ions [38,115-118].

D'autre part, quelques auteurs reportent la séparation de complexes métalliques, pour lesquels le ligand est un acide organique simple. Ainsi, l'article de revue de Collins [2] montre que la séparation de complexes est principalement accomplie avec des phases stationnaires échangeuses d'ions. En effet, un seul cas de chromatographie de phase inverse est présenté, il est appliqué aux complexes Fe(II)-tartrate, Fe(II)-malate et Fe(II)-citrate [119].

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

Les phases stationnaires échangeuses d'ions utilisées peuvent être de type cationique (ainsi les complexes formés, anioniques généralement, sont exclus tandis que le métal libre sera retenu, ce qui permet la séparation des espèces libres et complexées) dans le cas des complexes Zn(II)-citrate [120,121] ou Al(III)-citrate, Al(III)-oxalate [122]. A noter que ces méthodes ne sont pas applicables à tous les ligands organiques : ainsi, les complexes entre Al(III) et les ions acétate, propionate ou benzoate se dissocient avec la méthode exposée dans [122]. En outre, même si les complexes considérés sont stables pendant la durée d'analyse, ils peuvent coéluer et alors l'identification des complexes métal-acide organique d'un échantillon contenant ces différents acides organiques sera impossible [123].

Quelques cas de séparation de complexes métal-acide organique par chromatographie d'échange d'anions sont cités dans la revue de Collins (dans ce cas, la forme complexée est retenue et la forme libre du métal est exclue) : les complexes séparés sont Al(III)-citrate et Al(III)-phosphate [124], Zn(II)-citrate, Zn(II)-oxalate et Zn(II)-EDTA [125] ou les complexes entre l'ion citrate et Cd(II), Cu(II), Pb(II), Co(II) ou Ni(II) [126]. L'échange d'anions peut aussi être employé pour séparer de petits acides organiques, c'est pourquoi cette technique paraît être la plus adaptée au travail de thèse mené sur la complexation entre uranium et acide organiques simples.

III.2. Vérification par spectrophotométrie UV/vis. de la présence de complexes uranyle-oxalate dans les échantillons synthétiques

Cette étude a pour objectif de vérifier la formation des complexes uranyle-acides organiques (en prenant comme modèle le système uranyle-oxalate) dans les échantillons synthétiques étudiés (cf tableau 3) par spectrophotométrie UV/vis.

Pour trois concentrations d'uranium différentes (10^{-4} , 5.10^{-4} ou 10^{-3} mol.L⁻¹), on procède à l'analyse des échantillons correspondant aux ratios uranium-oxalate 1-0,1, 1-0,5, 1-1, 1-5, 1-10 et 1-50 par spectrophotométrie UV/visible dans la gamme de longueurs d'onde comprise entre 190 nm et 450 nm avec un pas de 0,5 nm. L'uranium et ses complexes avec l'oxalate absorbent effectivement le rayonnement essentiellement dans cette gamme de longueurs d'onde [127]. Le pH des échantillons vaut 3 et aucun sel de fond ou tampon n'est ajouté. Chaque analyse est répétée trois fois et les graphes présentés dans ce chapitre représentent la moyenne des trois acquisitions.

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

III.2.1. Démarche de l'étude

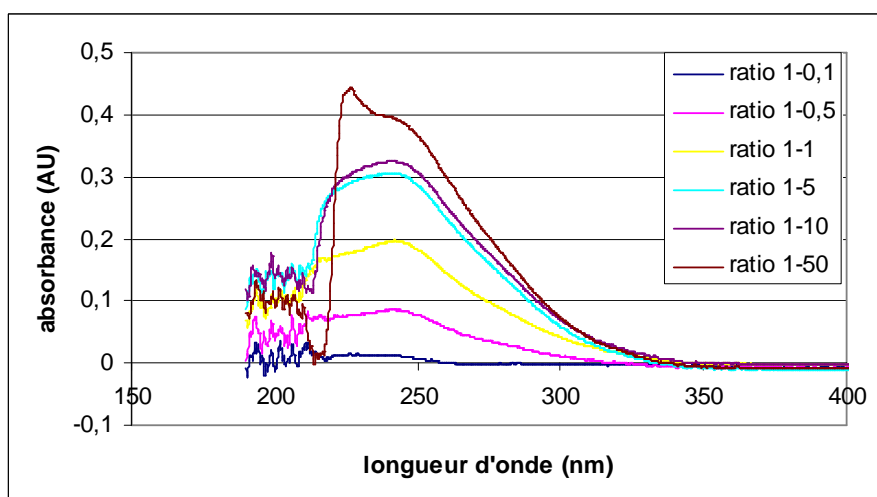
Le graphe obtenu par analyse des échantillons décrits ci-dessus représente la réponse des complexes uranyle-oxalate, mais aussi de l'uranium et de l'oxalate libres dans la solution à l'équilibre. Ces trois contributions sont mêlées puisque toutes ces espèces absorbent dans la même gamme de longueur d'onde (le maximum d'absorption est autour de 200 - 250 nm).

Pour définir clairement la part correspondant aux complexes éventuellement formés dans l'échantillon de ratio 1-x, on va analyser séparément un échantillon contenant uniquement du perchlorate d'uranium à la même concentration que dans l'échantillon de ratio 1-x et un autre échantillon contenant uniquement de l'oxalate à la même concentration que dans l'échantillon de ratio 1-x.

Le spectre corrigé, obtenu après suppression des signaux de l'uranium et de l'oxalate libres, représente donc la réponse des complexes uranium-oxalate, à laquelle est soustraite la réponse correspondant aux ions uranium et oxalate libres qui se sont complexés. Si le spectre corrigé est non nul, cela indique la présence de formes complexées.

III.2.2. Résultats

Les résultats obtenus dans cette étude sont rassemblés dans les figures 31 et 32.



*Figure 31 : Spectres corrigés des différents ratios
pour une concentration de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ en uranium.*

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

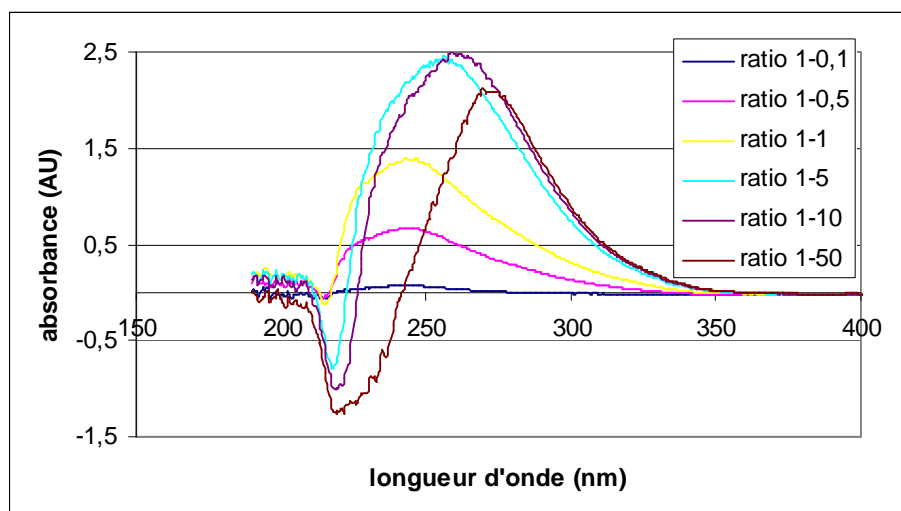


Figure 32 : Spectres corrigés des différents ratios pour une concentration de 10^{-3} mol.L⁻¹ en uranium.

Ces graphes permettent de faire plusieurs observations. D'abord, les spectres corrigés obtenus ne sont pas nuls, ce qui indique la présence de complexes uranyle-oxalate dans tous les échantillons. Ces espèces ont leur maximum d'absorption entre 220 et 250 nm. D'autre part, l'absorbance corrigée croît avec la concentration en ligand dans l'échantillon (excepté pour le ratio 1-50 de la figure 32), ce qui est cohérent avec le fait que la concentration des complexes croît avec la concentration en ligand. Ceci appuie la conviction selon laquelle les complexes uranyle-oxalate sont effectivement formés dans les échantillons étudiés.

On remarque que certains spectres corrigés prennent des valeurs légèrement négatives pour le maximum d'absorption de l'uranium et de l'oxalate seuls (à 210 nm environ), ce qui est tout à fait logique, puisque les complexes ont leur maximum d'absorption plutôt vers 250 nm.

La diminution d'absorbance corrigée des ratios 1-50, observable pour les concentrations en uranium les plus élevées ($5 \cdot 10^{-4}$ et 10^{-3} mol.L⁻¹), sont le signe de la saturation du détecteur au cours de leur analyse. En effet, les valeurs d'absorbance mesurées pour ces échantillons dépassent 3 AU, qui constitue la valeur limite de l'appareillage utilisé, tandis que les valeurs d'absorbance de l'uranium et de l'oxalate seuls restent inférieures à cette valeur. Le spectre corrigé pour ces échantillons a donc des valeurs d'absorbance plus faibles que les spectres corrigés pour les échantillons 1-10, pour lesquels il n'y a pas de saturation. Pour preuve, ce phénomène ne se produit pas pour la plus faible concentration d'uranium (10^{-4} mol.L⁻¹, cf figure 31).

Cette étude par spectrophotométrie UV/vis. permet donc de garantir la présence de complexes uranium-oxalate pour les ratios 1-0,5 à 1-50 pour différentes concentrations en uranium et donc pour les échantillons n°1 à 5 du tableau 3, analysés par la suite.

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

III.3. Séparation des complexes de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

III.3.1. Principe de l'étude

Comme il n'y a pas de méthode chromatographique commerciale dédiée à la séparation de complexes métalliques des acides organiques hydrophiles d'intérêt, cette étude a porté en premier lieu sur la détermination d'un couple phase stationnaire / phase mobile adaptée à la séparation des acides organiques d'intérêt, en faisant l'hypothèse que cette méthode chromatographique puisse ensuite être employée pour la séparation de leurs complexes métalliques. Dans notre étude, il s'agit bien entendu de complexes métalliques entre l'ion uranyle et les acides organiques hydrophiles.

Le premier objectif est de trouver différents couples phase stationnaire / phase mobile adaptés à la séparation des acides organiques d'intérêt : acides formique, acétique, lactique, oxalique, succinique, tartrique, fumarique et citrique. Ces acides correspondent aux acides carboxyliques naturels prépondérants dans les sols, en particulier dans les sols riches en matière organique.

La composition de la phase mobile rencontre plusieurs limitations : d'abord, l'éluant doit être 100% aqueux et avoir une composition la plus proche possible de celle du milieu naturel de référence, afin de pouvoir être utilisé pour l'étude de la spéciation de l'uranium ; ensuite la teneur en sels dissous doit être la plus faible possible pour permettre un couplage aisé avec l'ICPMS et pour limiter la dissociation des complexes métal-acide organique simple ; et enfin, la phase mobile ne doit pas contenir d'éléments pouvant être complexés par les acides organiques simples (les métaux sont donc à proscrire), afin de ne pas perturber la complexation de l'uranium par ceux-ci dans l'étude de sa spéciation.

Différents principes de phase stationnaire, parmi les types décrits dans la littérature, ont été mis en œuvre afin d'obtenir la séparation d'un maximum d'acides organiques. Pour chaque phase stationnaire, l'éluant standard, recommandé par le constructeur, est utilisé en premier lieu. Quand celui-ci permet une séparation correcte des composés d'intérêt, la suite de l'étude a eu pour objectif d'adapter la composition de la phase mobile au couplage avec l'ICPMS. Sinon, les expérimentations portent sur d'autres compositions de phase mobile ou sur des principes d'élution différents du mode isocratique, tels que les gradients de pH ou de force ionique.

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

III.3.2. Séparation des acides organiques d'intérêt

Les tableaux 6a et 6b résument les expérimentations menées afin de déterminer les couples phase mobile / phase stationnaire optimaux, permettant la séparation des acides organiques d'intérêt.

L'étude exposée dans les tableaux 6a et 6b a permis de développer plusieurs méthodes chromatographiques permettant une séparation correcte de 4 acides organiques d'intérêt (oxalique, tartrique, citrique et formique) avec un éluant compatible avec l'ICPMS. Elles sont synthétisées ici :

- pour l'ACCLAIM OA (phase inverse), l'éluant optimal est composé de HCl 2,5 mmol.L⁻¹ + (NH₄)₂SO₄ 10 mmol.L⁻¹.
- pour l'AS 16 (échange d'anions), un gradient de pH, H₂O → HCl 200 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl 20 mmol.L⁻¹ pH = 1,5, permet la meilleure séparation.
- pour l'HyperRez Carbohydrate-H⁺ (exclusion d'anions), le meilleur éluant est constitué d'acide chlorhydrique HCl 20 mmol.L⁻¹.

La suite du travail de thèse a pour objectif l'étude de la complexation de l'uranium par les 4 acides organiques représentatifs dans le milieu environnemental : oxalique, formique, tartrique, citrique. Les méthodes chromatographiques résumées ci-dessus ont été principalement employées ; mais l'optimisation de la méthode chromatographique ayant parfois eu lieu simultanément avec l'étude de la complexation de l'uranium, d'autres méthodes chromatographiques moins adaptées ont été utilisées sans succès mais ne sont pas présentées dans la suite de ce mémoire.

*III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples
par LC-ICPMS*

Principe chromatographique	Phase inverse	Echange d'anions		
Colonne chromatographique	ACCLAIM OA	AG 7 + AS7	AG 16 + AS 16	ProSwift Wax-1S
<p style="text-align: center;"><u>Phases mobiles employées</u> & Résultats obtenus</p>	<p style="text-align: center;"><u>MSA 2,5 mM</u> + <u>(NH₄)₂SO₄ 0 à 50 mM</u></p> <p>Séparation de 6 acides organiques (figure 58).</p> <p style="text-align: center;"><u>HNO₃ 2,5 mM</u> + <u>(NH₄)₂SO₄ 10 mM</u> Détection UV/vis. perturbée par la présence de nitrates.</p> <p style="text-align: center;"><u>HCl 2,5 mM</u> + <u>(NH₄)₂SO₄ 10 mM</u> Séparation correcte de 6 acides organiques d'intérêt.</p>	<p style="text-align: center;"><u>HCl 5 à 100 mM</u></p> <p>Rétention faible et nombreuses coélutions (figure 59).</p> <p style="text-align: center;"><u>HCl 5 à 15 mM</u> + <u>NH₄Cl 10 mM</u></p> <p>Mêmes conclusions.</p>	<p><u>MODE ISOCRATIQUE :</u> <u>HCl 5 à 50 mM</u> + <u>NH₄Cl 0 à 20 mM</u> Rétention faible et nombreuses coélutions (figures 60 et 61).</p> <p><u>GRADIENTS D'ELUTION :</u> <u>HCl + NH₄Cl</u> <u>0 à 10 mM / 0 à 20 mM</u> <u>→ 50 mM / 100 mM</u> Pics larges et mal séparés.</p> <p><u>GRADIENTS DE PH :</u> <u>Tris + NH₄Cl pH=7,5</u> <u>→ HCl + NH₄Cl pH=2,3</u> Détection UV/vis. perturbée par le Tris.</p> <p style="text-align: center;"><u>H₂O</u> <u>→ HCl + NH₄Cl pH=1,5</u> Séparation des acides formique, citrique et oxalique. Les autres acides coéluent avec ceux-ci.</p>	<p style="text-align: center;"><u>H₂O → HCl 10 mM + NH₄Cl 1 M pH = 2</u></p> <p>Coélutions et traînées de pics.</p> <p style="text-align: center;"><u>Efficacité de la colonne faible :</u> courbe de Van Deemter (tableau 29 et figure 62).</p>

*Tableau 6a : Synthèse des résultats obtenus pour les expériences de séparation des acides organiques simples ;
les figures et tableaux référencés se trouvent en annexe VI.7.*

*III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples
par LC-ICPMS*

Principe chromatographique	Exclusion d'anions	Carbone graphitique poreux	Appariement d'ions	
Colonne chromatographique	Carbohydrate-H ⁺	Hypercarb	Discovery C ₁₈	TSK-Gel Super ODS
<p><u>Phases mobiles employées</u></p> <p>&</p> <p>Résultats obtenus</p>	<p><u>HCl 5 à 50 mM</u></p> <p>Séparation de 6 acides organiques avec HCl 20 mM (figure 63).</p>	<p><u>TFA 0,08 %</u></p> <p>Séparation des acides formique, acétique, oxalique et tartrique (figure 64).</p> <p><u>CH₃COOH, HNO₃, HCl, NH₄Cl, C₆H₅COOH, acides fluorocarboxyliques...</u></p> <p>Coélutions multiples ou non élution des acides organiques d'intérêt.</p>	<p>(préconditionnement avec le cétrimide)</p> <p><u>H₂O</u></p> <p>Non élution des acides organiques.</p> <p><u>(NH₄)₂SO₄ 6 mM</u></p> <p>Pic très larges et fortement dissymétriques.</p>	<p><u>5 % Méthanol + 95 % TBAB</u></p> <p><u>5 mM</u></p> <p>Analyses non répétables.</p>

Tableau 6b : Synthèse des résultats obtenus pour les expériences de séparation des acides organiques simples (suite) ;
les figures et tableaux référencés se trouvent en annexe VI.7.

III.4. Etude de la complexation entre l'uranium et les acides organiques par chromatographie liquide

III.4.1. Principe de l'étude

L'étude de séparation des acides organiques simples a permis de mettre en avant plusieurs méthodes chromatographiques adaptées à l'analyse de ces composés. Vraisemblablement, leurs complexes métalliques, ayant des propriétés similaires en termes de masse molaire, de polarité et d'ionisabilité, devraient également être correctement séparés par ces méthodes. L'objet de cette étude est d'employer les différentes méthodes chromatographiques pour l'analyse des complexes entre l'uranium et les acides organiques. Plus précisément, si les complexes sont stables, il s'agit de trouver parmi ces méthodes celles qui permettent d'observer les complexes de l'uranium, c'est-à-dire celles qui permettent de séparer l'uranium libre, l'uranium complexé et les acides organiques libres. Ensuite, à partir d'une méthode chromatographique permettant de détecter simultanément l'uranium libre et complexé ou l'uranium complexé et le ligand libre, une étude de complexation peut être menée. Si les complexes sont à tendance labile, la méthode recherchée doit faire apparaître une variation du temps de rétention du métal avec l'ajout de ligand.

La démarche de cette étude est donc de préparer des échantillons contenant des concentrations variables d'uranium et d'acides organiques selon le tableau 3 et de réaliser leur analyse par les différentes méthodes chromatographiques définies dans l'étude précédente, pour finalement interpréter les pics chromatographiques obtenus. Eventuellement, si la séparation des complexes uranium-acides organiques est obtenue, on pourrait envisager de déterminer les constantes de complexation de ces systèmes par méthode chromatographique.

III.4.2. Chromatographie de phase inverse

Ce principe chromatographique est mis en œuvre avec la phase stationnaire ACCLAIM OA, dont les caractéristiques ont été détaillées précédemment. L'éluant optimisé sur ce type de colonne a la composition suivante : HCl 2,5 mmol.L⁻¹ + (NH₄)₂SO₄ 10 mmol.L⁻¹. Les chromatogrammes suivants (figure 33) comparent les résultats obtenus en détection UV/vis. pour l'analyse d'un échantillon contenant 6 acides organiques (oxalique, tartrique, citrique, formique, acétique, ascorbique) avec ou sans ajout de nitrate d'uranium.

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

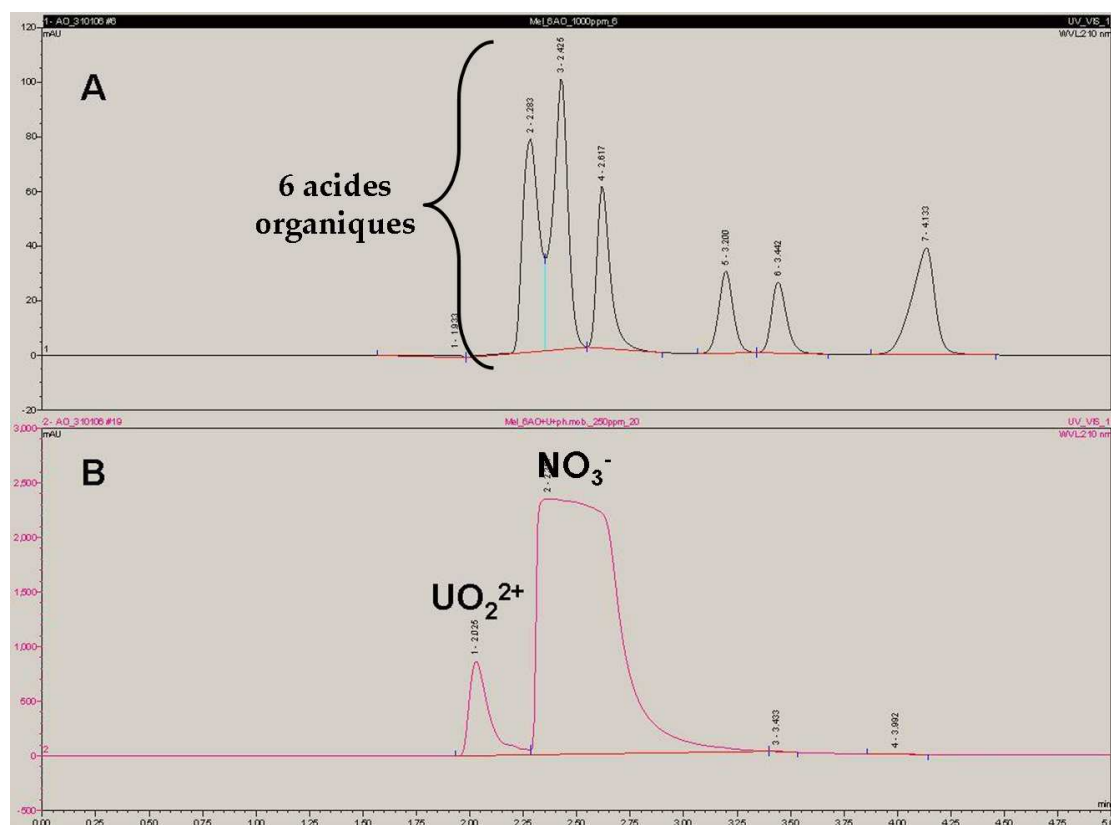


Figure 33 : Comparaison des temps de rétention des acides organiques simples et de l'uranium.

Phase stationnaire : ACCLAIM OA.

Phase mobile ($1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) : $\text{HCl } 2,5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \text{ } 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\text{pH} = 2,6$).

Echantillons : A/ mélange d'acides oxalique, tartrique, formique, lactique, acétique et citrique à 1000 ppm ;

B/ mélange d'acides oxalique, tartrique, formique, lactique, acétique et citrique à 500 ppm + $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \text{ } 500 \text{ ppm}$.

Détection : UV à 210 nm .

La figure 33 montre la séparation des acides organiques d'intérêt obtenue dans les conditions analytiques définies précédemment, elle s'effectue dans l'ordre suivant : oxalate, tartrate, formate, lactate, acétate et citrate. L'ajout de nitrate d'uranyle modifie le chromatogramme de deux manières : d'abord, il y a apparition d'un pic correspondant à l'uranium (ceci est confirmé par la détection ICPMS, cf figure 34) ; ensuite, un autre pic très large et de forte intensité masque les pics des acides organiques. Ce dernier pic a été attribué aux nitrates par des expériences complémentaires (ajout de nitrates à une solution d'acide oxalique). Cet anion a en

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

effet d'un coefficient d'extinction molaire bien plus élevé que ceux des acides organiques.

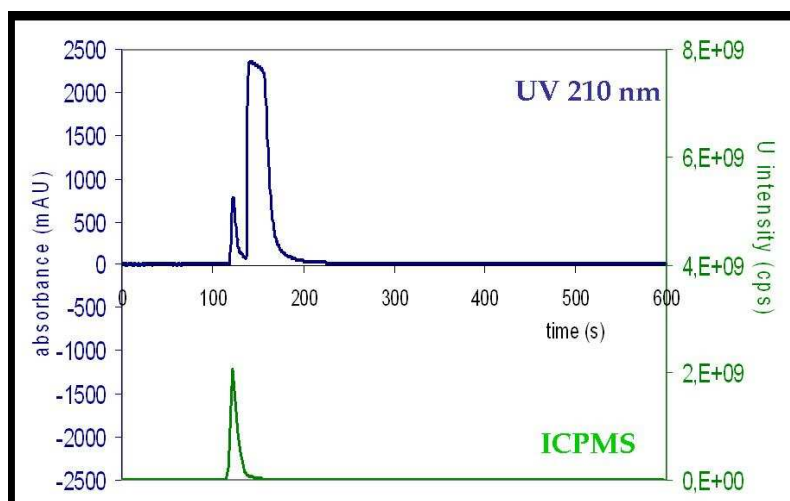


Figure 34 : Analyse d'un mélange d'acides organiques et d'uranium.

Phase stationnaire : ACCLAIM OA.

Phase mobile ($1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) : $\text{HCl } 2,5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \text{ } 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($\text{pH} = 2,6$).

Echantillon : mélange d'acides oxalique, tartrique, formique, lactique, acétique et citrique à 500 ppm + $\text{UO}_2(\text{NO}_3)_2 \text{ } 500 \text{ ppm}$.

Détection : UV à 210 nm pour la courbe bleue ; ICPMS à $m/z = 238$ (uranium) pour la courbe verte.

Sur ce chromatogramme, on observe que l'uranium est détecté sous la forme d'un pic unique, ce qui montre qu'il n'y a pas de complexes stables entre l'uranium et les acides organiques dans l'échantillon analysé. En effet, ces complexes seraient séparés de l'uranium libre et plusieurs pics seraient détectés.

D'autre part, la complexation des acides organiques par l'uranium devrait conduire à des temps de rétention différents pour les acides organiques étudiés. Or, le pic des nitrates masque les pics des acides organiques, ce qui gêne le suivi des temps de rétention. Toutefois, en agrandissant l'échelle du chromatogramme, on constate que les pics des acides organiques sont quasiment identiques en présence d'uranium ou non. Ceci nous indique que l'analyse avec ce type de phase stationnaire a tendance à dissocier les complexes uranium-acides organiques formés dans l'échantillon.

III.4.3. Chromatographie d'échange d'anions

La chromatographie d'échange d'anions mise en œuvre avec la colonne AS 16 permet d'obtenir des résultats satisfaisants pour la séparation des acides organiques hydrophiles. L'élution est réalisée grâce à un gradient de pH du type $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCl}$

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

200 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl 20 mmol.L⁻¹ pH = 1,5. Cette méthode analytique est employée ici pour l'analyse de solutions contenant 4 acides organiques (formique, citrique, tartrique et oxalique) auxquelles différents ajouts d'uranium sont effectués. Les concentrations des acides organiques et de l'uranium sont définies dans le tableau 3. Les chromatogrammes obtenus sont rassemblés dans la figure 35.

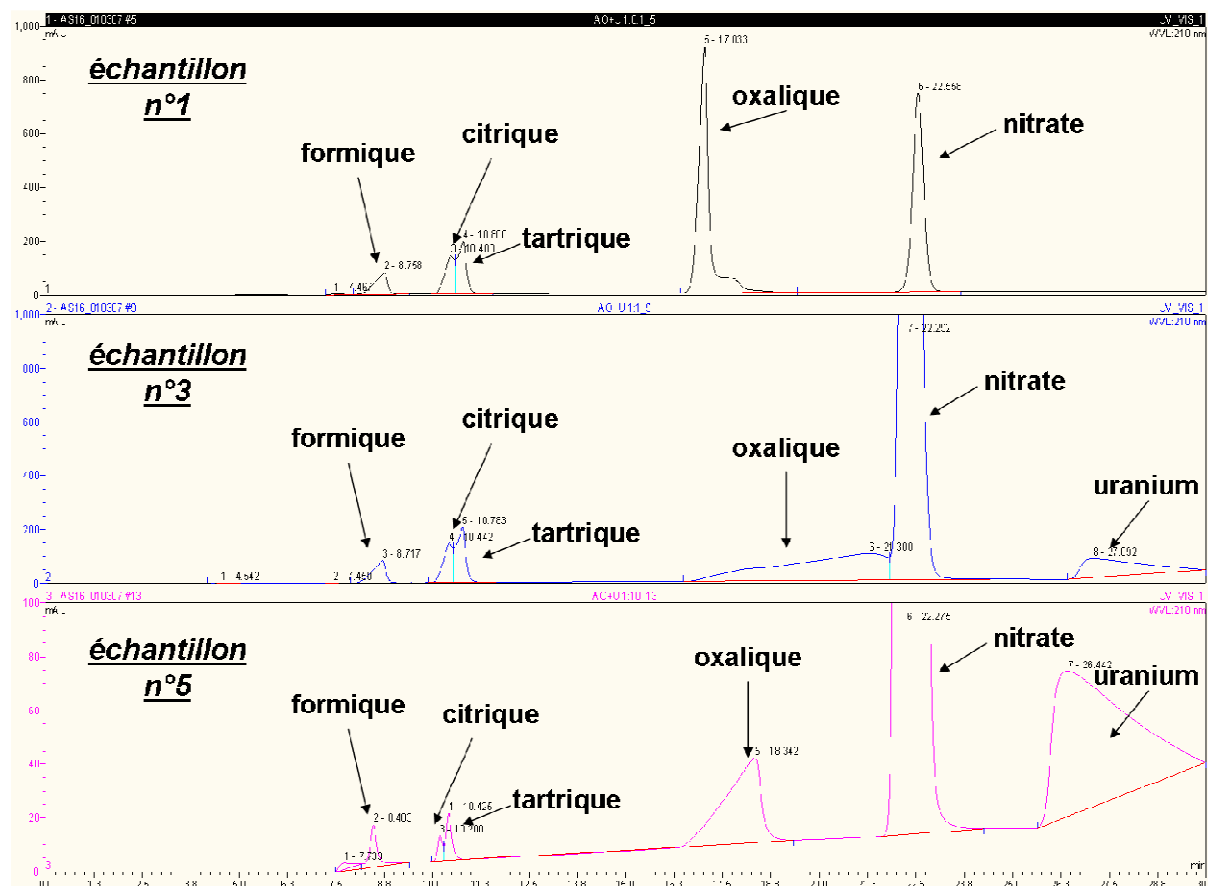


Figure 35 : Chromatogrammes obtenus avec différents ratios uranium - acides organiques.

Phase stationnaire : AS 16 + AG 16.

Phase mobile (0,25 mL.min⁻¹) : gradient de pH

H₂O → HCl 200 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl 20 mmol.L⁻¹ pH = 1,5.

Echantillons : mélange de 4 acides organiques et d'uranium à différentes concentrations (échantillons n°1, 3 et 5 cf tableau 3).

Détection : UV/vis. à 210 nm.

L'ajout de nitrate d'uranyle au mélange de 4 acides organiques fait apparaître un pic commun à tous les chromatogrammes au temps de rétention de 22,5 min. Une analyse complémentaire a permis d'attribuer ce pic aux nitrates ; on constate d'ailleurs sur les chromatogrammes de la figure 35 que la taille du pic des nitrates augmente avec leur concentration dans l'échantillon.

D'autre part, on observe que l'ajout d'uranium ne perturbe pas la détection des pics correspondant aux acides formique, citrique et tartrique : ils sont similaires à

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

ceux obtenus en l'absence d'uranium. En revanche, le pic chromatographique de l'oxalate disparaît avec l'ajout d'uranium dans l'échantillon au profit de deux nouveaux pics dissymétriques à $t_R \approx 18,3$ min et $t_R \approx 26$ min.

Les analyses LC-ICPMS de ces échantillons ont été menées afin d'identifier ces nouveaux pics (figure 36).

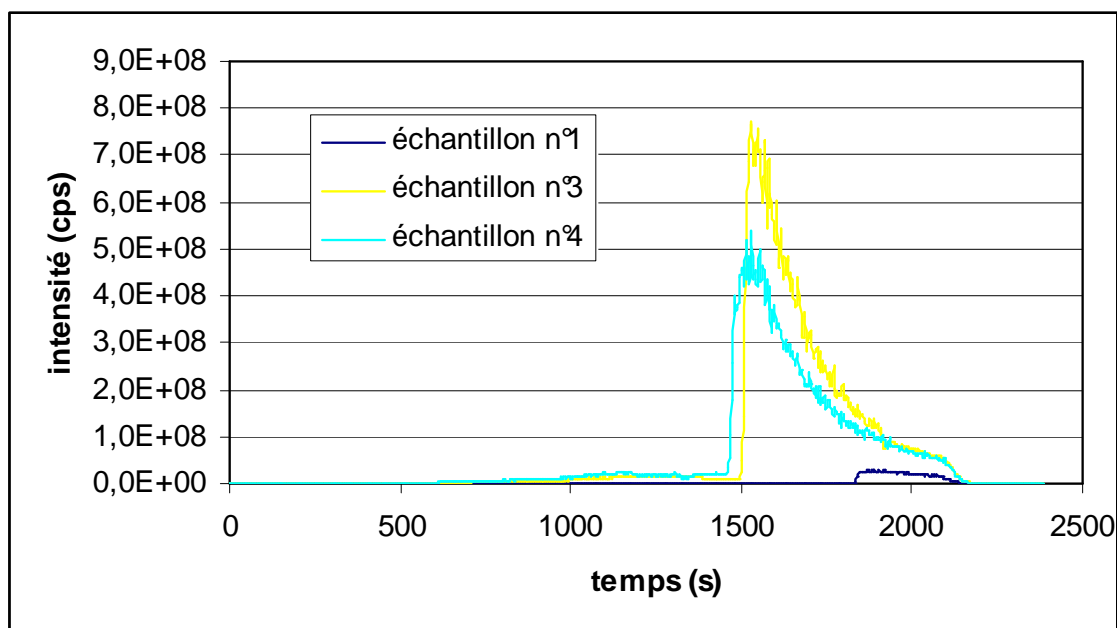


Figure 36 : Temps de rétention de l'uranium pour les différents ratios uranium - acides organiques.

Phase stationnaire : AS 16 + AG 16.

Phase mobile (0,25 mL.min⁻¹) : gradient de pH

H₂O → HCl 200 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl 20 mmol.L⁻¹ pH = 1,5.

Echantillons : mélange de 4 acides organiques et d'uranium à différentes concentrations (cf tableau 3).

Détection : ICPMS à m/z = 238 (uranium).

La figure 36 montre que le premier pic inconnu ne correspond pas à une espèce de l'uranium puisque celui-ci est élué à partir de $t \approx 1500$ s ≈ 25 min. Ce pic est donc attribué à l'oxalate, dont les propriétés de rétention sont modifiées par les grandes quantités de nitrates présentes dans l'échantillon et qui saturent les groupements fonctionnels de la colonne.

Le second pic inconnu ($t_R \approx 26$ min) du chromatogramme 35 correspond donc à l'élution de l'uranium libre. En effet, la quantité d'acides organiques libres ne diminue pas avec l'ajout d'uranium, ce qui indique que les complexes formés dans l'échantillon sont dissociés dans les conditions analytiques adaptées à la phase

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

stationnaire AS 16. Il n'est donc pas possible d'étudier la spéciation de l'uranium en présence de complexants naturels par cette méthode. Les essais menés avec les autres phases stationnaires échangeuses d'anions (AS 7 et Proswift) ont conduit aux mêmes types de résultats. L'emploi de la chromatographie d'exclusion d'ions a donc été envisagé.

III.4.4. Chromatographie d'exclusion d'ions

Avec la phase stationnaire HyperRez Carbohydrate-H⁺, la meilleure séparation des acides organiques simples est effectuée en mode isocratique avec un éluant simplement composé d'HCl 20 mmol.L⁻¹. Les temps de rétention sont plus faibles qu'en chromatographie d'échange d'ions grâce au phénomène d'exclusion d'ions, ce qui pourrait permettre d'empêcher la dissociation des complexes étudiés. L'analyse LC-ICPMS de l'échantillon n°3 (cf tableau 3) a conduit à l'obtention des chromatogrammes de la figure 37.

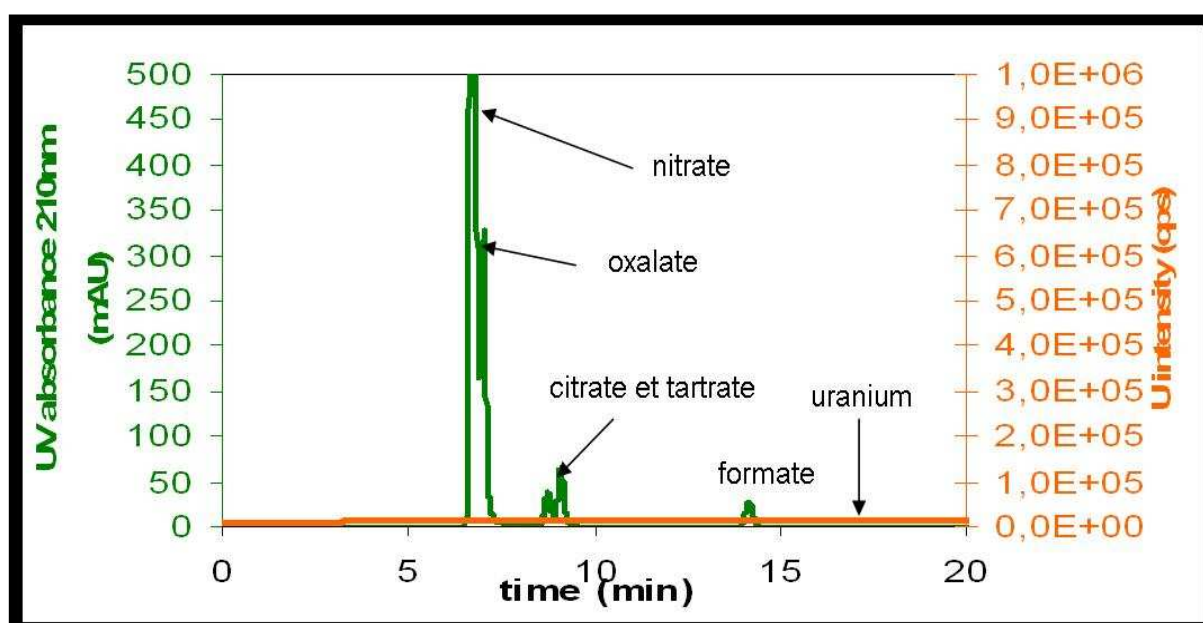


Figure 37 : Chromatogrammes obtenus pour l'échantillon n°3.

Phase stationnaire : HyperRez XP Carbohydrate-H⁺.

Phase mobile (0.6 mL.min⁻¹) : HCl 20 mmol.L⁻¹.

Echantillon n°3 : mélange d'acides oxalique, citrique, tartrique et formique à 1000 ppm chacun + nitrate d'uranyle 1000 ppm.

Détection : UV /vis. à 210 nm pour la courbe verte ;

ICPMS à m/z = 238 (uranium) pour la courbe orange.

Les résultats obtenus sont édifiants : les temps de rétention des différents acides organiques demeurent inchangés quand l'uranium est ajouté à l'échantillon. En outre, l'uranium reste fixé sur la colonne dans les conditions de l'analyse. Une forte concentration d'acide fort (HCl) est nécessaire pour décrocher l'uranium, ce qui s'explique par la forte affinité des cations comme l'ion uranyle pour les phases

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

stationnaires échangeuses de cations. Un pic de nitrates apparaît, très peu retenu et presque coélué avec les oxalates.

On déduit de ces observations que les complexes uranium-acide organique formés dans l'échantillon sont dissociés pendant l'analyse. En effet, l'uranium est fortement retenu pendant que les acides organiques sont exclus.

Les quelques essais menés sur les autres types de phase stationnaires (carbone graphitique poreux, appariement d'ions) n'ont pas permis d'aboutir à des résultats concluants, ce qui est cohérent avec le fait que la séparation d'acides organiques simples est difficile à obtenir avec ces types de phases stationnaires.

III.4.5. Conclusion intermédiaire : étude de la spéciation de l'uranium par LC-ICPMS

Le principe de l'étude de la spéciation de l'uranium (VI) en présence d'acides organiques simples était de déterminer préalablement une méthode chromatographique adaptée à la séparation de ces acides organiques. Ceci a été réalisé en deux étapes : premièrement, la présence des complexes uranyle – oxalate a été vérifiée par spectrophotométrie UV/vis. dans des échantillons avec des concentrations variées en uranium et en acide oxalique ; deuxièmement, de multiples couples phase stationnaire / phase mobile ont été testés pour la séparation des acides organiques hydrophiles d'intérêt. Cette étude a permis d'aboutir à la définition de quelques méthodes chromatographiques séparant convenablement les 4 acides organiques sur lesquels le travail de thèse s'est focalisé

Ensuite, ces méthodes chromatographiques ont été appliquées à l'analyse des échantillons contenant uranium et oxalate par couplage LC-ICPMS. L'analyse réalisée par la phase stationnaire ACCLAIM OA a montré une transformation intéressante du chromatogramme du mélange d'acides organiques quand du nitrate d'uranyle est ajouté à l'échantillon. Toutefois, les interprétations ont débouché sur la dissociation des complexes formés dans l'échantillon, le temps de rétention de l'uranium étant incompatible avec la présence d'un complexe entre l'ion uranyle et un acide organique.

Les mêmes analyses effectuées par la méthode développée sur colonne échangeuse d'anions (AS 16) montrent une certaine interaction entre l'ion uranyle et l'ion oxalate, au détriment des autres acides organiques. Néanmoins, les complexes uranyle-oxalate ne sont pas stables à l'échelle du temps d'analyse et l'on détecte en sortie de colonne des pics différents pour l'uranium et pour l'acide oxalique, ce dernier étant vraisemblablement affecté par la forte teneur en nitrates des échantillons. A nouveau, les complexes uranyle-oxalate, formés dans l'échantillon, sont dissociés en cours d'analyse.

III. Etude de la spéciation de l'uranium avec les acides organiques simples par LC-ICPMS

L'analyse de la spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques a mis en échec la méthode chromatographique développée sur phase stationnaire d'exclusion d'anions (Carbohydrate-H⁺), car l'uranium reste fortement associé aux groupements échangeurs de cations de la phase stationnaire, dans des conditions d'élution normales. Ceci cause la dissociation des complexes uranium-acide organique, puisque l'anion est exclu tandis que le cation est fortement retenu par la phase stationnaire.

La chromatographie liquide s'avère inadaptée à l'analyse de la spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples, puisque les complexes formés dans l'échantillon sont dissociés en cours d'analyse. Ceci peut s'expliquer par deux phénomènes mis en jeu dans ce type d'analyse.

D'une part, les conditions analytiques (composition de l'échantillon et de la phase mobile) sont particulièrement restreintes par le type de phase stationnaire utilisé. Ce manque de latitude au niveau des conditions analytiques impose de perturber l'équilibre établi dans l'échantillon lors de l'analyse. Ceci aboutit à la dissociation des complexes formés, afin de rétablir l'équilibre thermodynamique préalablement instauré (conformément à la loi générale de modération de Le Châtelier).

D'autre part, les complexes uranyle-acide organique sont généralement chargés et donc ils interagissent fortement avec les groupements fonctionnels de la phase stationnaire employée. Ceci peut occasionner la dissociation des complexes de l'échantillon, si l'un des ions du complexe a une affinité plus grande pour ces groupements fonctionnels que pour son ligand. Ceci est parfaitement illustré par les résultats obtenus sur la phase stationnaire d'exclusion d'anions, pour laquelle l'ion uranyle a une très grande affinité.

Il existe des méthodes permettant l'étude des complexes labiles en chromatographie liquide [128], mais aucun des résultats obtenus ne permettent de les appliquer. Le travail de thèse s'est donc orienté vers l'étude de la complexation de l'uranium avec les acides organiques hydrophiles par EC-ICPMS, en restreignant le domaine d'étude au système uranyle-oxalate. En effet, les travaux menés par LC-ICPMS ont montré la complexité de l'étude de complexation quand il s'agit de complexes peu stables. Grâce aux plus grandes possibilités offertes par l'EC en termes de conditions analytiques, la méthodologie a pu être modifiée pour permettre de préserver les complexes formés en cours d'analyse : l'électrolyte consiste en l'alliance d'un tampon pH non complexant et d'un sel de fond inerte, auxquels on ajoute une certaine quantité de ligand.

*IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques
par EC-ICPMS*

**IV. Mesures de constantes de complexation et de mobilités
électrophorétiques par couplage EC-ICPMS**

IV.1. Thermodynamique des solutions aqueuses

L'objectif de cette partie est de présenter les concepts de la chimie des solutions aqueuses à l'équilibre et leur application à l'acquisition de données thermodynamiques dans les équilibres de complexation.

IV.1.1. Loi d'action de masse

Un système chimique est caractérisé en thermodynamique par une fonction d'état des paramètres du système. On emploie souvent l'enthalpie libre G dans le domaine de la chimie puisque l'équilibre chimique est atteint lorsque l'enthalpie libre est minimale. Celle-ci dépend de paramètres intensifs, température T et pression P , et extensifs, n_i nombre de moles de l'espèce chimique indexée i , suivant l'expression suivante.

$$G = \sum_i n_i \mu_i \quad (\text{Eq.25})$$

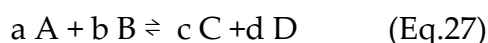
où μ_i est le potentiel chimique de l'espèce i , c'est une variable thermodynamique dépendant de la température T et de la pression P .

Les potentiels chimiques des espèces en solution s'écrivent en fonction des potentiels chimiques standards μ_i° , des activités a_i des espèces en solution et de la constante des gaz parfaits R (valant approximativement $8,314 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$) :

$$\mu_i(T, P) = \mu_i^\circ(T, P) + RT \ln\left(\frac{a_i}{a^\circ}\right) \quad (\text{Eq.26})$$

où a° désigne l'activité dans l'état standard (c'est-à-dire dans l'état physique le plus stable de l'espèce considérée) et vaut 1.

Un équilibre chimique s'écrit de manière générale :



Il est atteint lorsque l'enthalpie libre est minimale, c'est-à-dire quand $dG = 0$. D'après l'équation 25, $G_{\text{ini}} = a.\mu_A + b.\mu_B$ et $G_{\text{fin}} = c.\mu_C + d.\mu_D$, d'où :

$$0 = c.\mu_C + d.\mu_D - a.\mu_A - b.\mu_B \quad (\text{Eq.28})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Chaque potentiel chimique de (Eq.28) peut s'explicitier grâce à (Eq.25) pour obtenir :

$$0 = c.\mu_C^\circ + d.\mu_D^\circ - a.\mu_A^\circ - b.\mu_B^\circ + RT \ln \left(\frac{a_C^c a_D^d}{a_A^a a_B^b} \right) \quad (\text{Eq. 29})$$

On voit apparaître l'expression de l'enthalpie libre de réaction $\Delta_r G^\circ$:

$$\Delta_r G^\circ = c.\mu_C^\circ + d.\mu_D^\circ - a.\mu_A^\circ - b.\mu_B^\circ \quad (\text{Eq.30})$$

Ceci permet de réécrire l'équation 29 sous la forme de la loi d'action de masse :

$$\frac{a_C^c a_D^d}{a_A^a a_B^b} a^{\circ c+d-a-b} = \exp \left(-\frac{\Delta_r G^\circ}{RT} \right) = K^\circ \quad (\text{Eq. 31})$$

où K° désigne la constante thermodynamique de l'équilibre considéré dans l'état de référence, noté $^\circ$. Celle-ci est une fonction sans dimension de la température et de la pression.

Il convient alors de choisir un état de référence pour exprimer les grandeurs thermodynamiques standard, et par convention, on utilise l'état de dilution infinie pour lequel, par définition, l'activité de tout constituant vaut 1 ($a^\circ = 1$). Cet état permet de comparer des résultats obtenus par différentes méthodes analytiques et/ou par différents expérimentateurs.

Il est intéressant de noter que l'unité dans laquelle s'expriment les activités n'a pas été mentionnée. En effet, celle-ci est omise en pratique par souci de simplicité, mais elle dépend de la définition de l'activité dans l'équation 26. Généralement, dans les solutions diluées, on utilise la concentration molaire (en considérant que l'équation 26 est exprimée pour une mole de composé chimique et non pour une seule molécule) qui s'exprime en nombre de moles par litre de solution. La concentration molale (nombre de moles par kilogramme de solvant) serait plus appropriée car elle prend en compte la quantité de matière du solvant, indépendante des paramètres intensifs T et P, et non son volume, qui dépend de T et P. Toutefois, dans les solutions aqueuses diluées (de force ionique inférieure à 0,1 mol.L⁻¹), molalité et molarité sont identiques (car la densité de l'eau vaut 1). On utilisera donc les concentrations molaires dans toute la suite de cette étude.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

IV.1.2. Solutions réelles

Dans la pratique, les expériences sont menées à une force ionique non nulle et donc les activités sont difficilement accessibles ; on utilise alors volontiers les concentrations dans la loi d'action de masse. Ceci peut se faire en tenant compte de l'écart à l'idéalité, par introduction d'un terme correctif : les coefficients d'activité γ_i , définis comme suit :

$$a_i = \gamma_i \cdot [A]_i \quad (\text{Eq. 32})$$

Dans le cas de l'équilibre (Eq.27), la loi d'action de masse s'écrit :

$$K^\circ = \frac{\gamma_C^c \gamma_D^d [C]^c [D]^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b [A]^a [B]^b} \quad (\text{Eq.33})$$

On peut alors définir la constante d'équilibre conditionnelle K :

$$K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (\text{Eq.34})$$

(Eq.33) devient :

$$K^\circ = \frac{\gamma_C^c \gamma_D^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b} K \quad (\text{Eq. 35})$$

Ou encore :

$$\log(K^\circ) = \Delta \log \gamma + \log(K) \quad (\text{Eq.36})$$

$$\text{où } \Delta \log \gamma = \log \left(\frac{\gamma_C^c \gamma_D^d}{\gamma_A^a \gamma_B^b} \right) \quad (\text{Eq.37})$$

Les coefficients d'activité γ_i sont fonction de la nature de la solution dans laquelle la réaction (Eq.27) est effectuée et de sa force ionique. Celle-ci se définit ainsi :

$$I = \frac{1}{2} \sum_i C_i z_i^2 \quad (\text{Eq.38})$$

où z_i désigne la charge de l'espèce i.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

IV.1.3. Modèles disponibles pour le calcul des coefficients d'activité

Dans la pratique, l'expérimentateur peut accéder uniquement à des constantes conditionnelles, puisqu'il n'existe pas de solution idéale, dans laquelle l'activité de tous les constituants est égale à 1. En mesurant K à différentes forces ioniques, il peut ainsi en déduire une estimation de $\Delta \log \gamma$ puis de K° . Les coefficients d'activité individuels (chaque γ_i) ne sont pas directement mesurables.

Or, ceci nécessite de multiples expérimentations et ne permet pas de connaître la valeur de la constante d'équilibre conditionnelle à une force ionique autre que celles correspondant aux expériences effectuées. C'est ainsi que différents modèles ont été développés afin d'estimer la variation des coefficients d'activité en fonction de la force ionique et du type d'électrolyte, sur la base d'arguments empiriques et théoriques apportés par Bronsted [129]. Ces modèles permettent de relier K à K° . Ces modèles sont, dans un ordre croissant de sophistication : le modèle d'interactions électrostatiques à longue distance de Debye-Hückel [130] ; l'équation empirique de Davies [131], équivalente au modèle de Debye-Hückel étendu ; les théories d'interactions spécifiques déclinées selon plusieurs approches [129,132,133] ; la théorie de Pitzer [134]. Les équations associées à ces différents modèles sont décrites dans un ouvrage de la NEA [57].

Toutes ces théories sont basées sur le modèle de Debye-Hückel étendu et paramétrées pour reproduire les résultats expérimentaux. Plus le nombre de paramètres ajustables est élevé, plus les équations utilisées sont cohérentes avec les mesures expérimentales (d'activité de l'eau ou de coefficient d'activité moyen [14], par exemple) sur un large domaine de force ionique.

Ainsi, la formule de Pitzer, comportant trois paramètres ajustables, s'applique même pour les électrolytes de force ionique élevée (jusqu'à quelques molaires). Néanmoins, l'introduction d'un grand nombre de paramètres ajustables est un inconvénient quand ceux-ci sont inconnus et difficiles à estimer ; en particulier, Pitzer [134] a montré que les paramètres d'ajustement d'un système sont corrélés entre eux, ce qui complexifie la détermination de ceux-ci quand la solution contient de nombreuses espèces chimiques.

Quant à la théorie des interactions spécifiques (SIT en anglais), elle permet d'accéder plus facilement aux valeurs de l'unique paramètre à ajuster, car il est corrélé à la taille et la charge de l'ion considéré. Ceci autorise d'estimer a priori ce paramètre pour les systèmes où il n'a pas été déterminé expérimentalement. Cette méthode est plus adaptée que la théorie de Pitzer quand peu de données sont disponibles, comme c'est le cas pour les complexes de radionucléides. Elle est utilisée dans de nombreuses études, en particulier dans les revues critiques de la NEA pour modéliser un grand nombre d'expérimentations. Elle s'applique toutefois sur un

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

domaine de force ionique plus restreint, jusqu'à environ 4 mol.kg⁻¹. La SIT sera exposée plus en détail au paragraphe suivant.

La formule de Davies ne comporte pas de paramètre ajustable : elle permet une correction de la constante conditionnelle uniquement basée sur la force ionique de l'électrolyte (pour une valeur de force ionique inférieure à 0,1 mol.L⁻¹). La nature de l'électrolyte n'est pas prise en compte, afin de simplifier l'équation de correction de force ionique, et il a été montré que, pour de faibles valeurs de force ionique, l'écart entre le modèle de Davies et la SIT était relativement faible. Ceci justifie son utilisation pour les solutions diluées.

IV.1.4. Théorie des Interactions Spécifiques

Dans sa forme générale, l'équation issue de la théorie des interactions spécifiques comporte deux termes, un premier dépendant uniquement de la force ionique de la solution, correspondant à la loi de Debye-Hückel, et un second terme empirique sommant les contributions des ions en solution :

$$\log \gamma_i = -z_i^2 D + \sum_j (\varepsilon_{i,j} C_j) \quad (\text{Eq. 39})$$

avec C_j la concentration molaire de l'espèce j, $\varepsilon_{i,j}$ le coefficient d'interaction spécifique entre les ions i et j de la solution et :

$$D = \frac{A(T)\sqrt{I}}{1 + r_i B(T)\sqrt{I}} \quad (\text{Eq.40})$$

$$A(T) = \frac{e^3}{8\pi \ln 10} \sqrt{\frac{2000 N_A}{(\varepsilon_0 \varepsilon_{H_2O} k_B T)^3}} \quad (\text{Eq.41})$$

$$B(T) = e \sqrt{\frac{2000 N_A}{\varepsilon_0 \varepsilon_{H_2O} k_B T}} \quad (\text{Eq. 42})$$

e étant la charge élémentaire, N_A le nombre d'Avogadro, ε_0 la permittivité du vide, ε_{H_2O} la constante diélectrique de l'eau relativement au vide, k_B la constante de Boltzmann et T la température (en kelvin). r_i est assimilable au rayon hydraté de l'ion i considéré comme sphérique.

A et B sont supposés indépendants de la force ionique, même si ε_{H_2O} varie de l'eau déionisée à une solution de force ionique donnée. Ceci explique pourquoi le premier terme est insuffisant pour estimer le $\Delta_r \log \gamma_i$ pour les solutions de force ionique élevée. Les valeurs de A et de B sont tabulées en fonction de la température

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

[57] et valent $A = 0.5091 \text{ L}^{1/2}.\text{mol}^{-1/2}$ et $B = 0.328.10^{10} \text{ L}^{1/2}.\text{mol}^{-1/2}.\text{m}^{-1}$ à 25°C et 1 bar. Généralement, le produit $\varepsilon_i B$ est fixé à 1,5 à 25°C, et ceci permet de rendre les coefficients d'interaction spécifique indépendants de I .

Dans la pratique, les termes $\varepsilon_{ij}C_j$, dont la contribution à la force ionique est négligeable, sont omis de l'équation 39. Une manière classique pour limiter le nombre de coefficients d'interaction spécifique significatifs est de travailler dans un électrolyte inerte, en général un électrolyte fort XY dont la concentration est grande devant celle des solutés. Dans ce cas, la seule interaction significative est celle de l'ion X^+ ou Y^- de l'électrolyte de charge opposée à l'ion i et on utilise la formule simplifiée de la SIT :

$$\log \gamma_i = -z_i^2 D + \varepsilon_{i,X^+ \text{ ou } Y^-} [XY] \quad (\text{Eq.43})$$

Cette équation se simplifie encore pour devenir l'équation de Davies, quand les expériences sont menées à une force ionique faible (inférieure à 0,1 mol.L⁻¹) car le second terme de la formule de la SIT devient négligeable.

IV.1.5. Equation de Davies

L'estimation du coefficient d'activité dépend uniquement de la force ionique de l'électrolyte neutre dans lequel l'équilibre chimique est établi.

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} + Az_i^2 C_D I \quad (\text{Eq. 44})$$

avec C_D étant égal à 0,3.

Considérons maintenant l'équilibre de complexation d'un métal M avec un ligand L . Les échantillons peuvent être préparés dans un électrolyte fort, de force ionique inférieure à 0,1 mol.L⁻¹ et de manière à éviter la formation de complexes polynucléaires (i.e. avec plusieurs ions du métal M). Les complexes formés sont du type ML_j avec j variant de 1 à n , n étant l'ordre du complexe limite. L'équilibre de complexation s'écrit comme suit :



Les constantes de complexation conditionnelles sont données par la loi d'action de masse (Eq. 31) :

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

$$\beta_j = \frac{[ML_j]}{[M][L]^j} \quad (\text{Eq. 46})$$

Les équations 36 et 37 deviennent alors :

$$\log(\beta_j^\circ) = \Delta_r \log \gamma + \log(\beta_j) \quad (\text{Eq.47})$$

$$\Delta \log(\gamma) = \log(\gamma(ML_j)) - \log(\gamma(M)) - j \cdot \log(\gamma(L)) \quad (\text{Eq. 48})$$

L'équation de Davies permet de calculer les coefficients d'activités dans ce cas et d'obtenir ainsi une correction en force ionique pour la valeur trouvée expérimentalement :

$$\Delta \log(\gamma) = \Delta z^2 \cdot \left(-A \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + AC_D I \right) \quad (\text{Eq. 49})$$

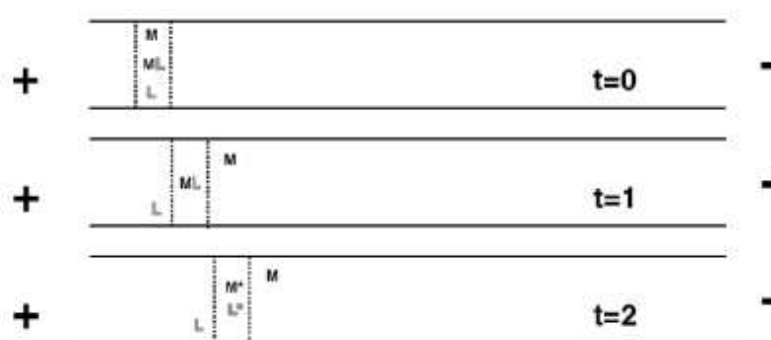
$$\text{avec } \Delta z^2 = z(ML_j)^2 - z(M)^2 - j \cdot z(L)^2 \quad (\text{Eq. 50})$$

Les expériences menées au cours de cette thèse ont été réalisées dans les conditions analytiques permettant l'utilisation de l'équation de Davies, afin de simplifier les corrections en force ionique.

IV.2. Détermination de constantes de complexation par couplage EC-ICPMS

IV.2.1. Stabilité d'un complexe métal-ligand

Un complexe est défini comme stable s'il reste formé au cours du temps. Du point de vue analytique, un complexe stable peut être séparé des autres constituants sans se dissocier : hors des conditions d'équilibre, le complexe stable a un temps de vie plus important que le temps d'analyse.



*Figure 38 : Modèle simplissime de dissociation
d'un complexe ML par séparation électrophorétique [135].*

Une constante thermodynamique de complexation K est le rapport des constantes cinétiques de formation k_f et de dissociation k_d du complexe concerné, puisque dans les conditions d'équilibre chimique, les espèces se forment et se dissocient constamment à des vitesses égales.

$$K = \frac{k_f}{k_d} \quad (\text{Eq. 51})$$

Un complexe stable se forme plus vite qu'il ne se dissocie, et à l'inverse un complexe labile a une constante cinétique de dissociation plus grande que celle de formation. Sonke et Salters [135] se sont ainsi intéressés à définir la stabilité d'un complexe à partir de la constante thermodynamique de complexation et de ses constantes cinétiques. Ils proposent une équation qui permet d'estimer la constante cinétique de formation d'un complexe à partir de la constante de complexation en sphère externe K_{os} et de la constante d'échange de l'eau k_{-w} (entre sphères externe et interne de complexation) :

$$k_f = K_{os} \cdot k_{-w} \quad [2,135] \text{ (Eq. 52)}$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

K_{os} dépend de la charge des espèces en jeu et de la force ionique, mais elle peut être approximée à 1 car elle joue un rôle très restreint.

De plus, le temps de demi-vie $t_{1/2}$ d'un complexe métal-ligand est donné par l'équation suivante :

$$t_{1/2} = -\frac{\ln(0.5)}{k_d} \quad (\text{Eq. 53})$$

Ces équations permettent de construire le diagramme de Sonke et Salters, présenté en figure 39 :

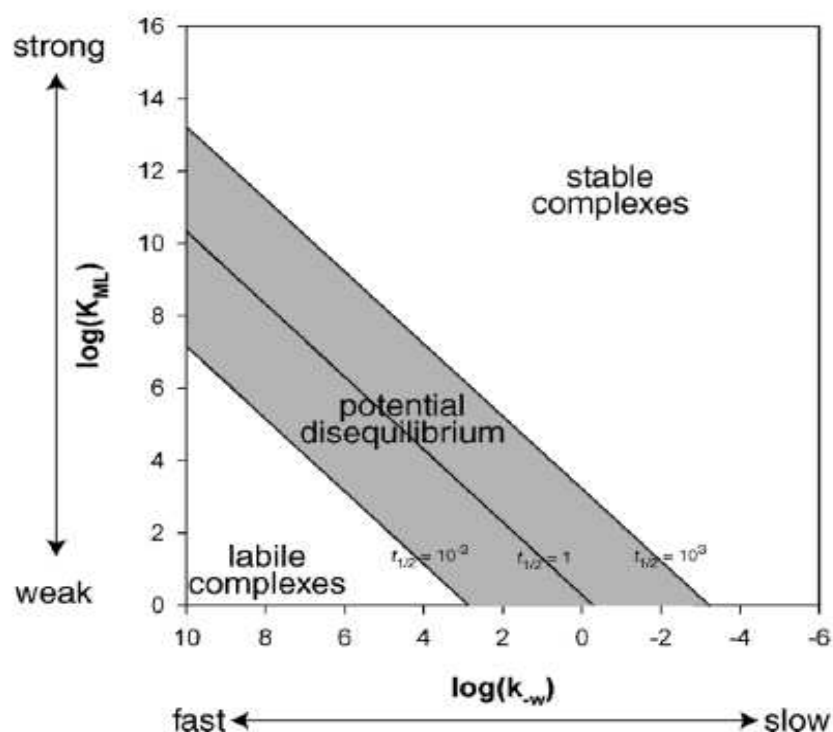


Figure 39 : Diagramme de stabilité des complexes métal-ligand [135].

En abscisse, le $\log(k_w)$ représente la cinétique de formation du complexe ; plus sa valeur est élevée, plus l'élément est cinétiquement rapide. En ordonnée est indiquée la constante de complexation du complexe étudié ; plus sa valeur est élevée, plus le complexe sera stable.

Sur ce diagramme figure le temps de demi-vie des complexes, ce qui permet de faire apparaître trois zones de stabilité des complexes au cours d'une séparation (chromatographique ou électrophorétique).

Quand le temps de demi-vie est largement supérieur au temps d'analyse (de l'ordre de quelques minutes), le complexe formé est stable, sa constante de

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

complexation est élevée et il a une cinétique assez lente. L'analyse permet donc d'observer l'espèce complexée au niveau du détecteur.

Quand le temps de demi-vie est largement inférieur au temps d'analyse, le complexe formé dans l'échantillon est dissocié par l'analyse. Sa constante de complexation est faible et sa cinétique rapide. Nous avons développé une méthode qui permet de suivre quand même l'état de complexation du métal considéré.

Il existe une zone intermédiaire entre ces deux zones de stabilité, pour des temps de demi-vie comparables au temps d'analyse. Dans ce cas, le diagramme ne permet de tirer aucune conclusion quant à la stabilité du complexe. Des expériences doivent être menées pour établir le comportement du complexe d'intérêt.

En ce qui concerne les systèmes que nous étudions (lanthane ou uranium + acides organiques), nous avons restreint l'étude à deux systèmes : lanthane-oxalate et uranyle-oxalate.

La constante d'échange de l'eau du lanthane est très élevée : 10^8 s^{-1} [135,136], ce qui indique un élément à cinétique rapide. La constante de complexation du complexe 1-1 lanthane-oxalate est donnée par [137] : $\log(K^{\circ}_{\text{LaOxal}^+}) = 5,8$. Ceci positionne le complexe lanthane-oxalate LaOxal^+ près de la zone de labilité, ce qui montre sa tendance à être labile.

En ce qui concerne l'uranium, c'est un élément à cinétique plutôt rapide, avec une constante d'échange de l'eau valant $1,3 \cdot 10^6$ [138]. La constante de complexation du complexe UO_2Oxal vaut : $\log(K^{\circ}_{\text{UO}_2\text{Oxal}}) = 7,4$ [127], ce qui le situe dans la zone de déséquilibre potentiel du diagramme de Sonke et Salters. Des expériences ont été menées pour déterminer son comportement en cours d'analyse et il se trouve que les complexes uranium-oxalate sont labiles.

IV.2.2. Electrophorèse capillaire d'affinité et isotherme de complexation

La méthode employée dans cette thèse pour accéder à la mesure de constantes de complexation de systèmes labiles est l'électrophorèse capillaire d'affinité [139]. Elle consiste en l'injection d'un échantillon contenant le métal M d'intérêt dans le capillaire initialement rempli d'un électrolyte de fond contenant une certaine concentration de ligand L. Sous l'effet du champ électrique, le métal migre dans le capillaire avec une mobilité électrophorétique notée μ_{ep} . Comme le métal a une cinétique rapide (puisque le système métal-ligand étudié est labile), il se rééquilibre en permanence avec le milieu dans lequel il se trouve. La valeur de sa mobilité électrophorétique effective est fortement influencée par les espèces présentes en solution dans l'électrolyte de fond, et en particulier, la concentration en ligand

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

influence grandement les formes chimiques sous lesquelles se trouve le métal et donc sa mobilité.

Le but de l'électrophorèse capillaire d'affinité est de mesurer la variation de la mobilité électrophorétique effective du métal M en fonction de la concentration du ligand L dans l'électrolyte de fond. Il faut donc que les mobilités du métal libre et du métal complexé soient significativement différentes, afin de pouvoir observer une modification de la mobilité électrophorétique effective du métal en fonction de la concentration du ligand [139,140]. En outre, le métal peut se complexer avec d'autres espèces que le ligand d'intérêt, ce qui conduit à des erreurs d'interprétation de l'évolution de la mobilité électrophorétique effective du métal. Les conditions analytiques doivent être précisément choisies afin d'éviter les complexations parasites avec les ions carbonates, provenant de la dissolution du dioxyde de carbone atmosphérique, les anions du sel de fond ou les ions hydroxyde (phénomène d'hydrolyse). D'autre part, le pH et la force ionique de l'électrolyte de fond doivent être soigneusement fixés en utilisant un tampon pH et un sel de fond en concentration suffisante forte par rapport à la concentration des analytes.

En pratique, on utilise un seul échantillon contenant le métal M et plusieurs électrolytes de fond de composition identique, mais avec des concentrations différentes en ligand L. On travaille avec une concentration du métal suffisamment faible pour éviter la formation de complexes polynucléaires, i.e. contenant plus d'un ion métallique. Dans ces conditions, les complexes formés sont du type ML_j avec j variant de 1 à n, n étant l'ordre du complexe limite.

La mobilité électrophorétique effective du métal M est la somme des contributions des différentes formes chimiques sous lesquelles il se trouve :

$$\mu_{ep}(M) = \sum_{j=0}^n \alpha_j \mu(ML_j) \quad (\text{Eq.54})$$

où $\mu_{ep}(M)$ est la mobilité électrophorétique effective du métal M, mesurée expérimentalement ; α_j est la fraction molaire du complexe ML_j ou, pour $j = 0$, du métal libre ; $\mu(ML_j)$ est la mobilité électrophorétique de l'espèce ML_j , j variant de 0 à n.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Dans le domaine de concentration du ligand restreint à l'étude du complexe 1-1 ML (généralement, $[L]_{\text{tot}} < [M]_{\text{tot}}$), l'équation (Eq. 54) se réduit à :

$$\mu_{ep}(M) = \alpha_0 \cdot \mu(M) + (1 - \alpha_0) \cdot \mu(ML) \quad (\text{Eq. 55}) [140]$$

où α_0 et $1 - \alpha_0$ désignent respectivement les fractions molaires du métal libre et complexé.

Les fractions molaires s'expriment uniquement en fonction des concentrations des espèces du métal M :

$$\alpha_j = \frac{[ML_j]}{[M]_{\text{tot}}} = \frac{[ML_j]}{\sum_{i=0}^n [ML_i]} \quad (\text{Eq. 56})$$

En remplaçant cette expression dans l'équation (54), on obtient :

$$\mu_{ep}(M) = \frac{\sum_{j=0}^n [ML_j] \cdot \mu(ML_j)}{\sum_{j=0}^n [ML_j]} \quad (\text{Eq. 57})$$

Combinée à la loi d'action de masse (Eq. 46), cette dernière équation permet d'obtenir l'isotherme de complexation :

$$\mu_{ep}(M) = \frac{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j \cdot \mu(ML_j)}{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j} \quad (\text{Eq. 58})$$

où β_0 n'a pas de sens physique. Il est fixé à 1 pour simplifier l'expression formelle de l'équation (58).

L'isotherme de complexation permet de relier l'évolution de la mobilité électrophorétique effective $\mu_{ep}(M)$, mesurée expérimentalement, aux constantes de complexation β_j , aux mobilités électrophorétiques des espèces du métal $\mu(ML_j)$ et à la concentration en ligand. Une modélisation adéquate des données expérimentales permettra donc de déterminer les constantes de complexation et les mobilités électrophorétiques recherchées.

L'isotherme de complexation prend une forme plus simple pour l'étude de la complexation 1-1 :

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

$$\frac{\mu_{ep}(M) - \mu(M_{libre})}{\mu(ML) - \mu_{ep}(M)} = K \cdot [L] \quad (\text{Eq. 59})$$

où K désigne β_1 , la constante de stabilité du complexe 1:1 à la force ionique I.

IV.2.3. Traitement mathématique des données expérimentales

Les expérimentations permettent de mesurer l'évolution de la mobilité globale du métal en fonction de la concentration du ligand dans l'électrolyte. La régression mathématique de ces données selon l'isotherme de complexation définie ci-dessus permet de déterminer les valeurs des paramètres inconnus (constantes de complexation et mobilités électrophorétiques des complexes) permettant d'ajuster au mieux les modèles théoriques aux données expérimentales.

La concentration en métal étant maintenue constante, il est pratique de considérer dans les calculs que la concentration en ligand est égale à sa concentration totale. Cette condition est satisfaite, en l'absence d'absorption, quand la constante de complexation n'est pas trop élevée ou pour de très grandes concentrations de ligand devant la concentration du métal.

D'autre part, les données expérimentales doivent être acquises sur une large gamme de concentration du ligand, afin d'obtenir l'essentiel de l'isotherme de complexation. Idéalement, l'isotherme de complexation doit débiter et se terminer par un plateau [139,140].

IV.2.3.1. Constante de complexation 1:1

Divers types de régressions [141] sont disponibles pour modéliser les données expérimentales selon l'isotherme de complexation de l'équation 59 : linéaire ou non, avec ou sans pondération. Parmi celles-ci, les régressions linéaires pondérées donnent des résultats comparables aux régressions non-linéaires, quand la différence de mobilité entre le métal libre et le métal complexé est grande. Les régressions linéaires non pondérées aboutissent aux plus grandes valeurs d'incertitudes, elles ne sont donc pas souhaitables.

Les régressions linéaires pondérées [142] sont donc utilisées dans cette étude car elles permettent d'obtenir les constantes de complexation avec la meilleure précision, sans recourir à une régression non linéaire, plus compliquée à mettre en œuvre. Les calculs mis en œuvre lors d'une régression linéaire pondérée sont décrits dans [142] .

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

L'isotherme de complexation (Eq. 59) peut être réécrite sous la forme de différentes équations linéaires :

$$\frac{1}{\mu_{ep}(M) - \mu(M_{libre})} = \frac{1}{K(\mu(ML) - \mu(M_{libre}))} \cdot \frac{1}{[L]} + \frac{1}{(\mu(ML) - \mu(M_{libre}))} \quad (\text{Eq. 60})$$

$$\frac{[L]}{\mu_{ep}(M) - \mu(M_{libre})} = \frac{1}{\mu(ML) - \mu(M_{libre})} \cdot [L] + \frac{1}{K(\mu(ML) - \mu(M_{libre}))} \quad (\text{Eq. 61})$$

$$\frac{\mu_{ep}(M) - \mu(M_{libre})}{[L]} = -K(\mu_{ep}(M) - \mu(M_{libre})) + K(\mu(ML) - \mu(M_{libre})) \quad (\text{Eq. 62})$$

Les méthodes de calcul de K et de $\mu(ML)$ relatives aux différentes régressions linéaires (équations 59 à 62) sont décrites dans le tableau suivant, $\mu(M)$ étant égale à la valeur expérimentale de $\mu_{ep}(M)$ dans un électrolyte ne contenant pas de ligand :

Equation/plotting method	K	$\mu(ML) - \mu(M)$
Mobility ratio difference method		
$\frac{\mu_f - \mu_i}{\mu_i - \mu_c}$ vs [L]	slope	must be determined experimentally
Double reciprocal		
$\frac{1}{(\mu_i - \mu_f)}$ vs $\frac{1}{[L]}$	$\frac{\text{intercept}}{\text{slope}}$	$\frac{1}{\text{intercept}}$
y-Reciprocal		
$\frac{[L]}{(\mu_i - \mu_f)}$ vs [L]	$\frac{\text{slope}}{\text{intercept}}$	$\frac{1}{\text{slope}}$
x-Reciprocal		
$\frac{(\mu_i - \mu_f)}{[L]}$ vs $(\mu_i - \mu_f)$	-slope	$-\frac{\text{intercept}}{\text{slope}}$

Tableau 7 : Régressions linéaires correspondant aux équations 59 à 62 et calcul de K et $\mu(ML)$. $\mu_i = \mu_{ep}(M)$; $\mu_f = \mu(M)$; $\mu_c = \mu(ML)$. [140,143]

Les trois régressions linéaires « réciproques » (double-, Y- et X-reciprocal) permettent de déterminer simultanément K et $\mu(ML)$, alors que la méthode de la différence des ratios de mobilité (équation 59) nécessite d'avoir déterminé $\mu(ML)$ par avance. Or, cette détermination est souvent impossible : il peut être difficile d'isoler le complexe ML en solution, surtout si sa cinétique de dissociation est rapide, comme c'est le cas pour les systèmes labiles. On comprend alors aisément que les méthodes réciproques permettent les déterminations les plus précises.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Chaque analyse est réalisée trois fois, afin de pouvoir calculer les écarts-types expérimentaux σ de la mobilité électrophorétique effective. Ceci permet de pondérer les méthodes décrites ci-dessus, en appliquant un poids à chaque point expérimental, égal à $1/\sigma^2$.

Les écarts-types de K et $\mu(\text{ML})$ sont calculés en propageant les écarts-types obtenus sur la pente (notée p) et l'ordonnée à l'origine (notée $o.o.$). L'écart-type sur la mobilité de l'ion métallique libre $\sigma(\mu(\text{M}))$ est égal à l'écart-type expérimental sur les trois mesures.

Régression linéaire	$\sigma(K)$	$\sigma(\mu(\text{ML}))$
« Mobility ratio difference » (Eq. 59)	$\sigma(p)$	incertitude expérimentale
« Double-reciprocal » (Eq.60)	$K \sqrt{\left(\frac{\sigma(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{\sigma(o.o.)}{o.o.}\right)^2}$	$\sqrt{\sigma(\mu(\text{M}))^2 + \frac{\sigma(o.o.)^2}{o.o.^4}}$
« Y-reciprocal » (Eq.61)	$K \sqrt{\left(\frac{\sigma(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{\sigma(o.o.)}{o.o.}\right)^2}$	$\sqrt{\sigma(\mu(\text{M}))^2 + \frac{\sigma(p)^2}{p^4}}$
« X-reciprocal » (Eq. 62)	$\sigma(p)$	$\sqrt{\sigma(\mu(\text{M}))^2 + \frac{\sigma(o.o.)^2}{p^2} + \frac{\sigma(p)^2(o.o.)^2}{p^4}}$

Tableau 8: Calculs des écarts-types de K et $\mu(\text{ML})$.
Les incertitudes valent 2σ pour un intervalle de confiance de 95%.

Les constantes de complexation étant souvent exprimées par leur logarithme, il est intéressant de noter que :

$$\sigma(\log(K)) = \frac{1}{\ln(10)} \frac{\sigma(K)}{K} \quad (\text{Eq. 63})$$

IV.2.3.2. Constantes de complexations successives

L'isotherme de complexation dans le cas de complexes multiples (équation 58) est clairement une équation non linéaire, les données expérimentales peuvent donc être modélisées uniquement grâce à une régression non linéaire. La meilleure précision est obtenue, encore une fois, en pondérant chaque point expérimental par $1/\sigma^2$ où σ est l'écart-type expérimental sur trois mesures avec la même concentration de ligand dans l'électrolyte. L'équation 58 est rappelée ci-dessous pour mémoire :

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

$$\mu_{ep}(M) = \frac{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j \cdot \mu(ML_j)}{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j} \quad (\text{Eq. 58})$$

L'isotherme de complexation est une équation comportant $2n$ paramètres inconnus ($\mu(ML_j)$ et β_j pour j variant de 1 à n , n étant l'ordre du complexe limite). Pour pouvoir déterminer ces paramètres inconnus, la régression non linéaire nécessite au moins $2n+1$ expériences, c'est-à-dire l'acquisition d'au moins $2n+1$ points avec des concentrations différentes en ligand.

En ce qui concerne le calcul d'incertitudes de cette détermination, il faut considérer que les incertitudes relatives aux mobilités électrophorétiques $\mu(ML_j)$ sont bien plus importantes que celles sur les constantes de complexation β_j . Comme leur détermination n'est pas indépendante (c'est le produit $\mu(ML_j) \beta_j$ qui est optimisé par la régression non linéaire), leurs incertitudes relatives sont difficiles à évaluer. Toutefois, les mobilités électrophorétiques sont généralement de l'ordre de quelques $10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, ce qui restreint le domaine des possibilités pour les constantes de complexation et donc leurs incertitudes.

Ainsi, les incertitudes des β_j peuvent être majorées par les incertitudes calculées quand une incertitude de 25 % est appliquée aux $\mu(ML_j)$. En effet, on présume généralement que les incertitudes des $\mu(ML_j)$ sont autour de 10 à 15 % (donc bien inférieures à 25 %). Par le calcul, on détermine β_j^+ pour des valeurs de mobilités fixées à $\mu(ML_j) + 25\%$; et on fait la même chose pour déterminer β_j^- , qui est calculé avec des valeurs de mobilités prises égales à $\mu(ML_j) - 25\%$. Finalement, les incertitudes des β_j correspondant à un intervalle de confiance de 95 % sont données par la relation :

$$2\sigma = \frac{|\beta_j^+ - \beta_j^-|}{2} \quad (\text{Eq. 64})$$

IV.2.3.3. Correction des constantes de complexation apparentes

Les constantes de complexation calculées dans le paragraphe précédent sont apparentes, car la concentration du ligand est considérée comme égale à sa concentration totale, et conditionnelles, c'est-à-dire obtenues hors des conditions standard de dilution infinie.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

D'abord, la concentration en ligand libre peut être différente de sa concentration totale pour deux raisons principales : la constante de complexation est très élevée ($\log(K) > 10$), et au pH de travail, le ligand n'est pas totalement sous forme déprotonée. Le premier problème peut être surmonté par un choix habile de la méthode de travail : quand la constante de complexation est élevée, le complexe est très stable et peut donc être étudié par analyse d'un échantillon équilibré contenant le métal et le ligand avec un électrolyte où métal et ligand sont absents. Pour surmonter la seconde difficulté, on effectue une correction de la constante de complexation, en introduisant dans la loi d'action de masse la concentration réelle en ligand, comme les équations ci-dessous l'illustrent. Les formules ci-dessous sont vraies quand les analytes ne sont pas soumis au phénomène d'absorption au sein du capillaire.

Nommons HL l'espèce protonée du ligand L. Son pK_A délimite les zones de prédominance de HL et L grâce à la relation de Henderson-Hasselbach, correspondant à une réécriture de la loi d'action de masse adaptée au couple acide/base HL/L :

$$pH = pK_A + \log\left(\frac{[L]}{[HL]}\right) \quad (\text{Eq. 65})$$

Celle-ci se réécrit pour exprimer la concentration du ligand libre en fonction de la concentration en ligand total ($[L]_{\text{tot}} = [L] + [HL]$) :

$$[L] = \frac{[L]_{\text{tot}}}{1 + 10^{pK_A - pH}} \quad (\text{Eq. 66})$$

On obtient ainsi une correction de la loi d'action de masse pour des expérimentations menées à un pH où le ligand n'est pas totalement déprotoné (pour $j = 1 - n$):

$$\beta_j = \frac{[ML_j]}{[M][L]_{\text{tot}}^j} (1 + 10^{pK_A - pH})^j = \beta_j^{\text{app}} \cdot (1 + 10^{pK_A - pH})^j \quad (\text{Eq. 67})$$

où β_j^{app} désigne la constante de complexation apparente, calculée par une régression des données expérimentale sans tenir compte de la protonation du ligand, et β_j la constante de complexation conditionnelle (ne dépendant que de la force ionique).

Enfin, la constante de complexation conditionnelle est transformée en constante de complexation à dilution infinie en utilisant l'une des méthodes de correction de force ionique décrites au début de ce chapitre (IV.1). Dans cette thèse,

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

on emploie l'équation de Davies, d'application aisée, car la force ionique de l'électrolyte n'est pas trop élevée ($I < 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$).

IV.2.4. Application aux systèmes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate

Ces méthodes analytiques ont été appliquées aux systèmes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate avec pour but de déterminer le nombre de complexes successifs, leurs constantes de complexation, ainsi que leurs mobilités électrophorétiques. L'étude du système lanthane-oxalate s'est révélée nécessaire pour définir les conditions analytiques d'étude, puisque les premières expériences sur l'uranium échouaient, vraisemblablement à cause de l'hydrolyse de l'uranium non maîtrisée à pH acide. Il faut donc considérer que les premières déterminations fructueuses ont été obtenues avec le système lanthane-oxalate, bien que les articles ci-dessous présentent les travaux dans un autre ordre, par commodité.

La première publication s'attache à présenter la méthode dans le cas du premier complexe (1-1), c'est-à-dire dans la gamme de concentration du ligand telle que seul le complexe d'ordre 1 est formé. Les différentes méthodes de régression linéaires pondérées sont présentées et comparées. Elles sont ensuite appliquées aux complexes UO_2Oxa et LaOxa^+ . Les constantes de complexation sont calculées à dilution infinie et comparées aux valeurs recensées dans la littérature. Les mobilités électrophorétiques à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ sont interprétées grâce à la formule d'Anderko [144], présentée au chapitre IV.3.

La seconde publication étend la méthode à l'ensemble du système métal-ligand, par l'utilisation d'une régression non linéaire pondérée. La démarche de cette méthode est expliquée pas à pas selon la gamme de concentration du ligand. La publication présente son application aux systèmes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate, où les valeurs obtenues sont comparées avec la littérature.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

IV.2.4.1. Publication n°1 :

Metal complexes stability constant determination by hyphenation of capillary electrophoresis with inductively coupled plasma mass spectrometry : the case of 1:1 metal-to-ligand stoichiometry

Journal of Chromatography A, 1216 (2009) 4113–4120

Jeremy Petit^{a*}, Valérie Geertsens^a, Catherine Beaucaire^b, Moncef Stambouli^{c, a}
CEA/DEN/DPC/SECR/LANIE, Bâtiment 391, 91191 Gif-sur-Yvette.

^bCEA/DEN/DPC/SECR/L3MR, Bâtiment 459, 91191 Gif-sur-Yvette.

^cEcole Centrale Paris / Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, 92290 Châtenay-Malabry.

* Corresponding author

Keywords

Hyphenation, capillary electrophoresis, stability constants, uranyl, lanthanum, oxalate.

Abstract

Nuclear energy development has raised new issues like radionuclides biogeochemistry. The modelling of their biochemical properties involves the accurate determination of thermodynamical data, like stability constants. This can be achieved by using hyphenated capillary electrophoresis (CE) – ICPMS and the method was applied successfully on 1:1 lanthanum-oxalate and uranyl-oxalate complexes. Several significant steps are discussed: choice of analytical conditions, electrophoretic mobility calculation, mathematical treatment of experimental data by using linear regressions, ligand concentration and ionic strength corrections. The following values were obtained with a good precision respectively for lanthanum-oxalate and uranyl-oxalate complexes: $\log(K^\circ(\text{LaOxa}^+)) = 6.10 \pm 0.10$ and $\log(K^\circ(\text{UO}_2\text{Oxa})) = 6.40 \pm 0.30$ at infinite dilution. These values are consistent with the literature data, showing CE-ICPMS potential for metal complexes stability constants determination.

Introduction

In the last decades, the interest for speciation has increased in many research fields, like biomedical, industrial, nuclear or environmental analysis. It is generally admitted that toxicity, bioavailability, and thus biological and environmental impact of an element are dictated by its physico-chemical forms in a sample. As a result, the determination of its total concentration in environmental samples is not sufficient to evaluate its impact on the surrounding media. Indeed, the chemical speciation of an

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

element governs its physico-chemical properties, its interactions with biomass, its ability to migrate or to sorb on mineral surfaces and its toxicity [6,19].

Nuclear energy development has raised new issues, such as the environmental behaviour of radionuclides. Due to their toxicity and/or radiotoxicity, the radionuclides (mainly lanthanides and actinides) behaviour has become an important subject of study, particularly in a context of nuclear waste repository. In this purpose, modelling their environmental properties, like their mobility under non-equilibrium conditions, involves accurate stability and kinetic rate constants determinations. Our work is thus concentrated on the determination of lanthanum(III) and uranium(VI) stability constants, as representative elements respectively for lanthanides and actinides. The interest for these systems is motivated by the fact that their published stability constants show a wide discrepancy.

Besides, while the complexation properties of inorganic anions toward radionuclides are well established, there is a lack of data concerning the stability constants of the association between radionuclides and natural organic matter. This latter comprises humic substances, macromolecules – like proteins, DNA restriction fragments or polysaccharides – and small organic ligands – like acids: oxalic, tartaric, lactic; aminoacids or oligopeptides – [8,9,12]. For this reason, our work is focused especially on the complexation ability of ligand oxalate, a small organic compound ubiquitous in natural waters.

Several analytical techniques have been extensively used for stability constant determination, like potentiometry, polarography, conductimetry or UV-Vis. spectrophotometry, and, more specifically, hyphenated techniques in the case of trace elements or speciation studies. Among the hyphenated techniques, the most widely used are the coupling of gas or liquid chromatography [7,126,128] with ICPMS for the combination of the high separation efficiencies of chromatography with the specific elemental identification and the high sensitivity of ICPMS.

Recent improvements in CE-ICPMS hyphenation and developments of commercial interfaces allow CE-ICPMS to be regarded as an alternative technique for speciation studies [4,5,10,139]. This can be explained by the fact that hyphenated CE-ICPMS gathers many advantages [3]: low sample and electrolyte consumption (this is especially interesting in the nuclear field, where the amount of waste effluents is critical), better respect of metal speciation, high sensitivity, its possibility of implementation in a radiological controlled area, etc. For all this reasons, we have chosen to determine metal complexes stability constants by using hyphenated CE-ICPMS.

In the literature, two main protocols exist for metal complexes stability constant determination, depending on the studied complex stability, as shown on the

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Sonke and Salters diagram [135]. This diagram defines three different complex stability areas according to their stability and formation constants. It helps to guess if the studied complex is stable regarding to the analysis time. Indeed, an analytical technique like CE separates the free metal cation and its complexed form, which creates a disequilibrium effect. On one hand, a complex is stable if its half-life is much greater than the analysis time. In this case, two separated peaks are observed, corresponding to free metal and complexed form. Then, the stability constant can be calculated by varying the ligand concentration in the sample and measuring the concentrations of free and complexed forms. On the other hand, if the half-life of the complexed form is much shorter than the analysis time, the disequilibrium effect can lead to the dissociation of the complex. In this case, the complex is labile, and only the global mobility of the metal ion can be measured, corresponding to the average electrophoretic mobility of all complexed forms. In the Sonke and Salters diagram, it remains an uncertain area, when the half-life of the complex is similar to the analysis time: a potential disequilibrium occurs and experiments have to be carried out to determine if the studied complex is rather labile or stable.

In the Sonke and Salters study, lanthanum is described as a kinetically fast element. The formation constant of the complex (its kinetic rate constant k_{form}) is approximated by the product:

$$k_{\text{form}} = K_{\text{OS}} \cdot k_{\text{-w}} \quad (\text{Eq. 68}) [2,135]$$

where K_{OS} is the stability constant for metal ligand outer sphere complexation (approximated to 1) and $k_{\text{-w}}$ is the rate of water exchange between inner- and outer-coordination sphere. For lanthanum, the water exchange constant is very high: 10^8 s^{-1} [2,135,136] which corresponds approximately to a kinetic rate constant of 10^8 and indicates a kinetically fast element. The first stability constant of lanthanum-oxalate system $\log(K(\text{LaOxa}^+))$ is about 5.8 at infinite dilution [137]. The lanthanum-oxalate complex is located near the labile area in the Sonke and Salters diagram, which would show its tendency to be labile. As regards uranium, a NMR study [138] indicates that this is rather a kinetically fast element. Indeed, its kinetic rate constant (nearly equal to its water-exchange constant according to Eq. 68) is equal to $1.3 \cdot 10^6$, whereas the first stability constant of uranium-oxalate system $\log(K(\text{UO}_2\text{Oxa}))$ is about 7.4 at infinite dilution [127]. Thus the uranyl-oxalate complex is found in the potential disequilibrium area and some experiments will be carried to determine whether the complex is labile or not.

This paper will first describe the analytical method used for metal complexes stability constant determination in labile systems. The mathematical way to obtain the binding isotherm and its use for stability constant determination will be discussed. Then, the analytical conditions of lanthanum-oxalate and uranium-oxalate

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

studies will be selected. The method will finally be applied to estimate the stability constants of 1:1 lanthanum-oxalate and uranium-oxalate complexes.

Material and methods

Chemical and reagents

The solution used to optimize the ICPMS performance was a 14 elements multi-elementary solution at $1\ \mu\text{g.L}^{-1}$ prepared from mono-elementary standard solutions (Spex, Longjumeau, France) kept in $0.3\ \text{mol.L}^{-1}$ nitric acid at $1\ \text{g.L}^{-1}$. The make-up solution of $1\ \text{mol.L}^{-1}$ nitric acid was prepared by dilution of Plasmasure nitric acid (SCP Science) in deionised water (Millipore, Bedford, USA).

The samples of $10^{-4}\ \text{mol.L}^{-1}$ lanthanum were prepared by diluting $7\ \mu\text{L}$ La(III) Spex solution at 1000 ppm and $10\ \mu\text{L}$ dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich) as neutral marker in $483\ \mu\text{L}$ background electrolyte. For the lanthanum-oxalate system, the background electrolyte was a non-complexant [145] MES buffer (MES hydrate, Fluka) of $25\ \text{mmol.L}^{-1}$, adjusted at $\text{pH} = 6.0$ ($\text{pK}_\text{A}(\text{MES}) = 6.15$) with a $1\ \text{mol.L}^{-1}$ standard solution of sodium hydroxide (Acros Organics). The ionic strength was then adjusted to $100\ \text{mmol.L}^{-1}$ with ammonium chloride (Sigma-Aldrich) to obtain a stock solution. This solution was used to prepare both the lanthanum samples and the background electrolytes at $\text{pH} 6.0$ with various concentrations of oxalates (oxalic acid, Fluka).

A stock solution of about $42\ \text{mmol.L}^{-1}$ uranium was prepared by the following method: $10\ \text{mL}$ of uranyl nitrate Spex solution at 10000 ppm are evaporated until dryness and redissolved in the same volume of perchloric acid (Normapur, Prolabo); this operation was repeated three times in order to remove nitrates. The samples of $10^{-4}\ \text{mol.L}^{-1}$ uranium were prepared by mixing $12\ \mu\text{L}$ U(VI) stock solution and $10\ \mu\text{L}$ DMSO with $478\ \mu\text{L}$ background electrolyte. For the uranyl-oxalate system, the background electrolyte was a pyridine buffer (Merck) of $25\ \text{mmol.L}^{-1}$, adjusted at $\text{pH} = 3.5$ ($\text{pK}_\text{A}(\text{pyridine})$ is about 5.2) with a $1\ \text{mol.L}^{-1}$ standard solution of sodium hydroxide. The ionic strength was finally adjusted to $50\ \text{mmol.L}^{-1}$ with ammonium chloride to obtain a stock solution. This solution was used to prepare the uranyl samples and the background electrolytes at $\text{pH} 3.5$ with various concentrations of oxalate.

The daily capillary pretreatment was achieved with pure ethanol (Fluka), deionised water, $1\ \text{mol.L}^{-1}$ sodium hydroxide and $1\ \text{mol.L}^{-1}$ hydrochloric acid solutions.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Capillary electrophoresis

A commercial capillary electrophoresis Beckman Coulter P/ACE MDQ (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, USA) provided with a capillary cartridge support designed for the adaptation of an external detector was used. The voltage applied between the extremities of the capillary varies from 5 to 25 kV.

Fused-silica capillaries (50 μm i.d., 360 μm o.d., 70 cm total length) purchased from Beckman Coulter were used. Before each set of runs, capillaries were washed at a pressure of 5 psi (about $3.5 \cdot 10^4$ Pa) with the following sequence: ethanol, deionised water, 1 mol.L⁻¹ sodium hydroxide solution, deionised water, 1 mol.L⁻¹ hydrochloric acid, deionised water, background electrolyte. Each step lasts 5 minutes.

The sample injections were performed in the hydrodynamic mode and the injected volume of sample injected V , given in liter, was calculated according to Poiseuille's law [72]:

$$V_{inj} = \frac{\pi d^4 t \Delta P}{0.128 \eta L} \quad (\text{Eq. 69})$$

in which ΔP is the difference of pressure, expressed in Pascal, applied between the inlet and the outlet of the capillary; L and d are respectively the total length and the internal diameter (in meter) of the capillary; η is the electrolyte dynamic viscosity in Pascal.second; and t is the injection time in second. In our injection conditions, $\Delta P = 3.5 \times 10^3$ Pa, $\eta = 10^{-3}$ Pa.s (for aqueous solutions) and $t = 10$ s, V_{inj} is about 10 nL for 70 cm-long capillaries, while the total volume of the capillary is about 1.5 μL . This injection time was found to give the best height to peak area ratio for the electrophoresis peaks obtained in the present work.

In capillary electrophoresis, the mobility of ionic species, μ , is directly connected to velocity, v , or time of migration, t , through the following equation:

$$\mu = \frac{v}{E} = \frac{L_{det} \cdot L}{t \cdot U} \quad (\text{Eq. 70})$$

where E is the electric field intensity (V.cm⁻¹); U , the applied voltage (V); L_{det} , the length from the capillary inlet to the detector. The measured mobility μ_{app} is, in fact, the sum of the electrophoretic mobility μ_{ep} , defined above in equation 70, and the electroosmotic mobility μ_{eo} , generated by the motion of the Stern double layer formed near the capillary inner wall. This electroosmotic mobility is weak in acidic media, but not negligible. Therefore, migration time of dimethylsulfoxide (neutral marker) was evaluated by the UV detector supplied with the CE apparatus, at a

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

wavelength of 214 nm, and used for electroosmotic mobility determination for each run.

ICPMS

Measurements were carried out using an inductively coupled plasma mass spectrometer (Element 2, Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). In standard conditions, a micromist nebulizer (Glass Expansion, Melbourne, Australia), which has a nominal flow rate of 100 $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$, and a cyclonic spray chamber [146] made of borosilicate glass were used for daily mass calibration. This configuration is advantageous for its low dead volume, rapid washout and correct sensitivity.

The apparent mobility of a metal ion M was determined according to the equation 71:

$$\mu_{app} = \frac{L^2}{t_{MS}(M).U} \quad (\text{Eq. 71})$$

where $t_{MS}(M)$ is the migration time of metal ion M, detected by ICPMS. The electrophoretic mobility of the metal ion was then deduced from this value by subtracting the electroosmotic mobility determined by UV detection. This method is named “double detection” [10]. An example of use of the double detection method is given in table 9.

	$t_{MS}(\text{La})$ (s)	La^{3+} apparent mobility μ_{app} ($10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	$t_{UV}(\text{DMSO})$ (s)	electroosmotic mobility μ_{eo} ($10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	La^{3+} electrophoretic mobility μ_{ep} ($10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$)
Run 1	358	6.84	134	2.61	4.23
Run 2	347	7.06	140	2.50	4.56
Run 3	348	7.04	139	2.52	4.52

Table 9: Use of the double detection method for the calculation of La^{3+} electrophoretic mobilities from migrations times; analytical conditions corresponds to lanthanum-oxalate study with a background electrolyte free from ligand oxalate.

The three La^{3+} electrophoretic mobilities values obtained are close, leading to a low standard deviation ($\sigma = 1.8 \cdot 10^{-5}$) around the average value $\mu_{ep}(\text{La}^{3+}) = 4.44 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$.

The same experiments were carried out with uranyl ion and the following results were obtained with the pyridine buffer: $\mu_{ep}(\text{UO}_2^{2+}) = 3.81 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$ and $\sigma = 6.0 \cdot 10^{-6}$.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

CE-ICPMS interface

Three main issues are encountered in the CE-ICP-MS coupling: the flow rate discrepancy between both instrument, the closing of the CE electrical circuit and the suction effect, which creates a laminar flow inside the capillary.

In order to respect the three main criteria of CE-ICPMS hyphenation, the Mira Mist CE interface (BürGENER Research, Mississauga, Ontario, Canada) was used. A parallel nebulizer, operating at 3 – 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ flow rates and minimizing the suction effect, is connected to a high efficiency Teflon micro-chamber (BürGENER Research, Mississauga, Ontario, Canada) with a PEEK T-union. A 1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HNO_3 make-up solution in contact with a platinum electrode was pumped at 10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ flow rate by a syringe pump (Harvard Apparatus, Holliston, USA, 10mL polypropylene syringes). This acidic solution allows a fast decontamination of the nebulization interface, compensate the CE low flow rate (about 0.1 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$) and close the electrical circuit.

A laboratory designated system was built to optimize the position of the capillary outlet extremity. A schema of this apparatus is given in figure 40 and results are summarized in the following section.

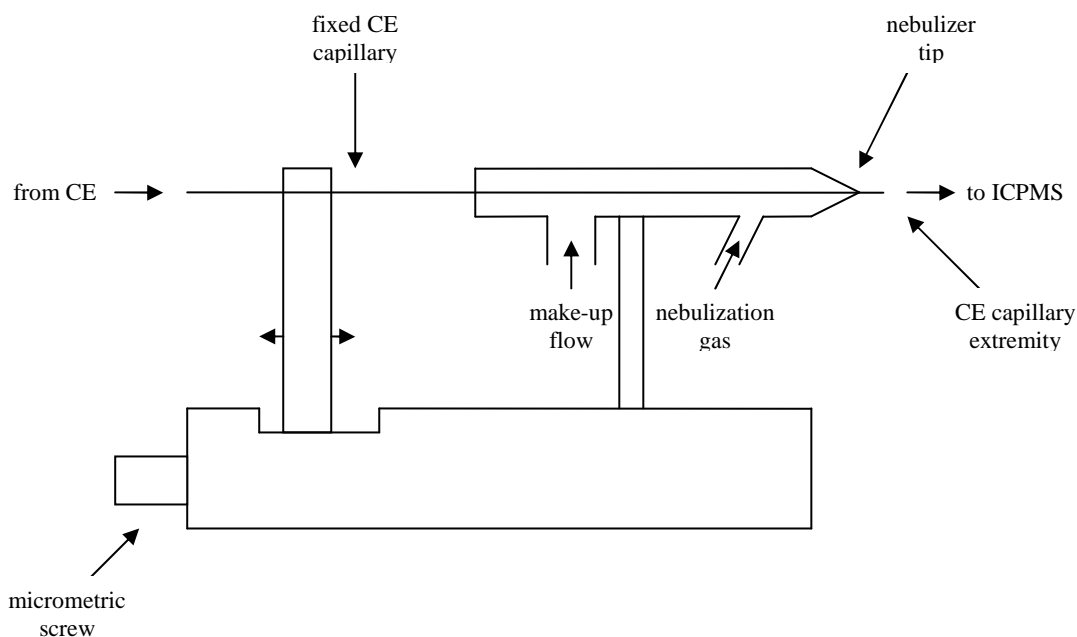


Figure 40: Schematic representation of the laboratory made system.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Results and discussion

Stability constant determination for 1:1 metal complexes

Binding isotherm

The method the most commonly used to estimate metal complexes binding constants by CE is named ACE (Affinity Capillary Electrophoresis [139]). It consists in measuring the variation of metal ion electrophoretic mobility with increasing ligand concentrations in the buffered electrolyte. For accurate results, this analytical method needs to respect two main requirements. First, the metal ion electrophoretic mobility must change with ligand addition. This criterion is satisfied if the mobilities of free and complexed metal are different. Secondly, the equilibrium time scale must be shorter than the CE time scale, which is true for kinetically fast systems like labile complexes. [128,143]

Analytical conditions can be fixed so that free metal and 1:1 complex are the only species found in solution (for instance, when the maximum ligand concentration is not too high, compared to the fixed metal concentration). The binding constant at a given ionic strength can be written:

$$K = \frac{[ML]}{[M]_{\text{free}}[L]} \quad (\text{Eq. 72})$$

where $[ML]$, $[M]_{\text{free}}$ and $[L]$ are respectively the equilibrium concentrations of the complex, free metal and free ligand [139]. In this ideal system, the metal ion mobility variation, observed when the ligand is added to the background electrolyte, is solely caused by the complexation of the metal with the ligand. Analytical conditions must thus be well chosen to avoid undesired phenomena like metal hydrolysis or additional complexation (for instance, by bicarbonates arising from atmospheric carbon dioxide dissolved in the samples).

In the case of labile systems, the individual species cannot be determined separately. During a CE run, the metallic species behave as a single compound, whose electrophoretic mobility is the weighted average of all individual species electrophoretic mobilities. As a result, only one peak is detected. In the case of 1:1 complex formation, the electrophoretic mobility is written:

$$\mu_i = \phi \cdot \mu(M_{\text{free}}) + (1 - \phi) \cdot \mu(ML) \quad (\text{Eq. 73}) [143]$$

where μ_i is the experimentally measured electrophoretic mobility, $\mu(M_{\text{free}})$ the electrophoretic mobility of free metal M, $\mu(ML)$ the electrophoretic mobility of ML

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

complex, Φ and $1 - \Phi$ are respectively the molar fractions of free and complexed metal.

Hence, by replacing Φ by $\frac{[M_{free}]}{[M_{free}] + [ML]}$ and $1 - \Phi$ by $\frac{[ML]}{[M_{free}] + [ML]}$ in the equation 73 and combining it with equation 72, the following expression of the binding isotherm is obtained:

$$\frac{\mu_i - \mu(M_{free})}{\mu(ML) - \mu_i} = K \cdot [L] \quad (\text{Eq. 74})$$

which links the mobility ratio difference to the stability constant K and the ligand concentration.

Mathematical treatment

As previously stated, the stability constant and the electrophoretic mobility of the complex ML can be evaluated by means of the binding isotherm, by varying the ligand concentration and measuring the metal ion M electrophoretic mobility, when no adsorption occurs on the silica capillary. The free metal concentration must be kept constant. It is common in practice to consider that the free ligand concentration is equal to the total ligand concentration. This condition may be satisfied when a low metal concentration (inferior to one order of magnitude under ligand concentration) is employed, or when the stability constant is low. It has to be noted that the experimental data must be collected over a large portion of the binding isotherm in order to obtain the most precise evaluation; ideally, the experimental curve should begin and end by plateaus. [139,143]

For mathematical treatment of experimental data, both non-linear and linear regressions are available [141]. Weighted linear and non-linear regressions give comparable results when the mobility difference between free and complexed metal is great, while non-weighted linearizations produce the highest error levels. For this reason, only weighted linear regressions will be discussed in this paper.

The binding isotherm can be rewritten in three different ways:

$$\frac{1}{\mu_i - \mu(M_{free})} = \frac{1}{K(\mu(ML) - \mu(M_{free}))} \cdot \frac{1}{[L]} + \frac{1}{(\mu(ML) - \mu(M_{free}))} \quad (\text{Eq. 75})$$

$$\frac{[L]}{\mu_i - \mu(M_{free})} = \frac{1}{\mu(ML) - \mu(M_{free})} \cdot [L] + \frac{1}{K(\mu(ML) - \mu(M_{free}))} \quad (\text{Eq. 76})$$

$$\frac{\mu_i - \mu(M_{free})}{[L]} = -K(\mu_i - \mu(M_{free})) + K(\mu(ML) - \mu(M_{free})) \quad (\text{Eq. 77})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Table 10 reports the linear regressions associated with the above equations 75, 76, 77 and the way to calculate K and μ (ML).

Equation/plotting method		K	$\mu(ML) - \mu(M)$
Mobility ratio difference method			
$\frac{\mu(ML) - \mu_i}{\mu_i - \mu(M)}$	vs $[L]$	slope	must be determined experimentally
Double reciprocal			
$\frac{1}{\mu_i - \mu(M)}$	vs $\frac{1}{[L]}$	$\frac{\text{intercept}}{\text{slope}}$	$\frac{1}{\text{intercept}}$
y-Reciprocal			
$\frac{[L]}{\mu_i - \mu(M)}$	vs $[L]$	$\frac{\text{slope}}{\text{intercept}}$	$\frac{1}{\text{slope}}$
x-Reciprocal			
$\frac{\mu_i - \mu(M)}{[L]}$	vs $\mu_i - \mu(M)$	-slope	$-\frac{\text{intercept}}{\text{slope}}$

Table 10: Linear regressions of the binding isotherm in the case of 1:1 complexation (adapted from [143]);

mobility ratio difference method: Eq.74; double-reciprocal method: Eq. 75;

Y-reciprocal method: Eq. 7675; X-reciprocal method: Eq. 77.

The three reciprocal regressions provide both K and μ (ML). On the contrary, the mobility ratio difference method requires to determine previously the electrophoretic mobility of the complex μ (ML). But, when the complexed form cannot be the only chemical form present in solution or when the complex dissociation kinetic is fast, this determination is impossible. That is especially the case for labile systems. The reciprocal methods will be used in this paper to obtain the more accurate value of stability constant.

K and μ (ML) uncertainties are evaluated by spreading the errors of the slope and intercept, calculated by weighted least squares analysis. Stability constants were calculated with a variation range corresponding to more or less 2σ , where σ is the standard deviation. This uncertainty is also given at 95% confidence level.

Calculation of thermodynamic stability constant

The last step of mathematical treatment of experimental data consists in the calculation of the thermodynamic stability constant K° , corresponding to the value of stability constant at infinite dilution.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

The thermodynamic stability constant is defined by:

$$K^{\circ} = \frac{(ML)}{(M_{free})(L)} \quad (\text{Eq. 78})$$

where (ML), (M_{free}) and (L) are the respective thermodynamic activities of ML, M and L in the equilibrium state.

Activities are related to concentrations by the following equation:

$$(M) = [M] \cdot \gamma(M) \quad (\text{Eq. 79})$$

where $\gamma(M)$ is the activity coefficient of free metal M.

The combination of equations 72, 78 and 79 gives us: [128]

$$K^{\circ} = K \frac{\gamma(ML)}{\gamma(M_{free})\gamma(L)} \quad (\text{Eq. 80})$$

The activity coefficients can be estimated by employing various ionic strength correction equations, like the Debye-Hückel equations, the Davis equation or the Specific Interaction Theory [57], depending on the ionic strength of the background electrolyte.

For example, the relatively simple Davis equation can be used for molalities under 0.1 mol.kg⁻¹:

$$\log \gamma_i = -Az_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + Az_i^2 C_D I \quad (\text{Eq. 81})$$

where A is a modelling parameter equal to 0.5091 at 25°C, z_i is the charge of the considered ion, I the ionic strength of the background electrolyte and C_D another modelling parameter equal to 0.3.

Lanthanum-oxalate stability constant determination

Apparatus optimization

A study has been carried out in order to improve the performance of the interface between CE and ICPMS and a laboratory made system has been built in this purpose. The best position of the capillary outlet extremity was found to be 1 millimeter back from the nebuliser tip (data not shown). Indeed, positions out of the nebulizer lead to a poor nebulization and therefore a drastic loss of sensitivity.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Otherwise, an important liquid dead volume may appear for positions too far inside the nebulizer, which decreases resolution between analytes.

The influence of overall capillary length on peak shape and sensitivity has also been investigated. Several capillary lengths between 70 cm (required to link CE to Mira Mist CE interface) and 100 cm have been tested and better sensitivity is obtained for capillary lengths under 90 cm. In order to optimize peak efficiency and to reduce migration times, 70 cm long capillaries were chosen.

Analytical conditions

As previously explained, analytical conditions have to be fixed for metal complex stability constant determination.

First, the pH has to be fixed so that the change in migration time of lanthanum(III) is only attributed to complexation with oxalate. For lanthanum ions, hydrolysis begins at pH 6.5; beyond this pH, hydroxo-complexes of La(III) may appear and reduce free lanthanum mobility. This value has been calculated with CHESS software (Mines, Paris) by using the hydrolysis constants found in [147]. To avoid interferences with hydroxo-complexes of lanthanum(III), the electrolyte pH must be buffered under 6.25. Otherwise, oxalate is a dicarboxylic acid with $pK_{A1} = 1.40$ and $pK_{A2} = 4.25$ [58]. So, oxalate is totally ionized for pH above $pK_{A2} + 1 = 5.25$. At this pH, free oxalate concentration is equal to total oxalate concentration. Hence, the working electrolyte has been buffered at pH 6.0 (between 5.25 and 6.25) by MES, a zwitterionic compound which provides non-complexing, non-reducing and good buffering properties [145].

The ionic strength of the background electrolyte has been fixed at a rather low value, in order to simplify ionic strength corrections of the stability constant. However, the ionic strength of oxalate ions must be low in relation to total ionic strength. In the experiments, the oxalate concentration does not exceed $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ (lanthanum concentration in the sample), so that only 1:1 complex is formed during analysis. As a consequence, the value of 0.1 mol.L^{-1} total ionic strength seems to be a good compromise. Ammonium chloride salt was used to fix the ionic strength, because chloride is a poor complexant for lanthanum. The analytical conditions are summarized in table 11.

The lanthanum concentration of $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ does not permit to observe the probable adsorption on capillary wall.

*IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques
par EC-ICPMS*

Capillary Electrophoresis	
CE voltage	20 kV
Applied pressure	0.5 psi (i.e. $3.5 \cdot 10^3$ Pa)
CE capillary	Fused silica, 50 μm i.d., 360 μm o.d., 70 cm length
Sample	10^{-4} mol.L ⁻¹ + dimethylsulfoxide as neutral marker Hydrodynamic
Sample injection	0.5 psi (i.e. $3.5 \cdot 10^3$ Pa) during 10s ($V_{\text{inj}} \approx 1\% \cdot V_{\text{tot}}$)
Background electrolyte	MES buffer pH = 6.0, $I_{\text{MES}} = 25$ mmol.L ⁻¹ + various concentrations of oxalate + NH ₄ Cl to fix ionic strength at $I_{\text{tot}} = 100$ mmol.L ⁻¹
ICPMS	
Nebulizer	Mira Mist CE
Spray chamber	Micro-chamber Teflon
Plasma gas flow rate	15.8 L.min ⁻¹
Nebulizer gas flow rate	0.75 L.min ⁻¹
Auxiliary gas	0.8 L.min ⁻¹
Power	1200 W
Make-up liquid	HNO ₃ 1 mol.L ⁻¹
Make-up flow rate	10 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ (delivered by a syringe pump)

Table 11 : Summary of the experimental parameters fixed for lanthanum-oxalate stability constant determination.

Lanthanum-oxalate 1:1 complex: determination of apparent stability constant

The following diagram (figure 41) shows the electrophoretic mobilities of lanthanum(III) measured versus oxalate concentration in the range 0 to $8 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹. The experimental data were acquired three times for each point. Figure 41 shows also the theoretical curves obtained by means of the different linear regressions, by taking the weight of each point equal to $1/\sigma^2$, where σ represents the electrophoretic mobility standard deviation for these three experiments. Table 12 gives the apparent stability constant K and electrophoretic mobility of the complex $\mu(\text{LaOxa}^+)$ calculated by using each linear regression from table 10, and their associated uncertainties. These values are employed to calculate the theoretical curves that are presented on figure 41.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

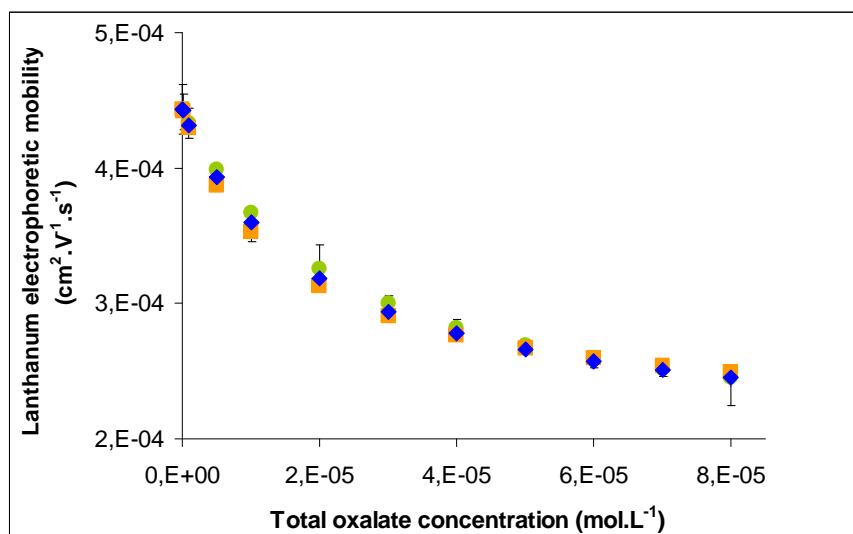


Figure 41: Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and comparison with the theoretical data calculated with linear regressions (error bars: experimental data and associated uncertainties (2σ); circles: mobility ratio difference method; diamonds: X-reciprocal, squares: Y- and double-reciprocal; analytical conditions are described in table 3).

Linear correlation	Mobility ratio difference method	X-reciprocal	Y-reciprocal	Double-reciprocal
$\mu(\text{LaOxa}^+)$ ($\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	a priori fixed at $1.88.10^{-4}$	$1.97.10^{-4}$ $\pm 49 \%$	$2.12.10^{-4}$ $\pm 7 \%$	$2.12.10^{-4}$ $\pm 12 \%$
$\log(K)$	4.63 ± 0.03	4.71 ± 0.12	4.81 ± 0.07	4.81 ± 0.07

Table 12: Apparent stability constant K and electrophoretic mobility of the complex LaOxa^+ obtained with the different linear regressions, and associated uncertainties (2σ).

Figure 41 shows that all four linearization methods provide good results, as all calculated data are found within the range of experimental data uncertainties, except some points corresponding to the mobility ratio difference method. This last method can be considered as the less accurate one, especially because the mobility of lanthanum-oxalate complex is arbitrarily chosen in order to obtain the best fitting of experimental data.

The results displayed in table 12 show a good agreement between the three others linear regressions: the values of $\log(K)$ and $\mu(\text{LaOxa}^+)$ obtained in this study are almost the same, by taking into account the related uncertainties. Nevertheless, the results obtained from X-reciprocal method have largest uncertainty ranges than the ones obtained from Y-reciprocal or double-reciprocal methods.

Therefore, the most reliable values are 4.81 ± 0.07 for $\log(K(\text{LaOxa}^+))$ and $2.1.10^{-4} \pm 0.2.10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$ for $\mu(\text{LaOxa}^+)$. The latter value seems consistent: indeed, the experimental value of $\mu(\text{La}^{3+})$, equal to $4.44.10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (table 9), is about three

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

times higher than the calculated value of $\mu(\text{LaOxa}^+)$, as it can be assumed considering their charges. The difference between $\mu(\text{La}^{3+}) / 3$ (equal to $1.48 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) and $\mu(\text{LaOxa}^+)$ (equal to $2.12 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) is attributed to size differences between free La^{3+} and complexed LaOxa^+ .

According to Anderko and Lencka [144], $\mu(\text{LaOxa}^+)$ can be estimated by another way. On the basis of the expression of Stokes ionic radius, the authors have shown that it is possible to evaluate the conductivity of the complex ML λ_{ML} , knowing the conductivities of free metal M and free ligand L:

$$\lambda_{ML} = \frac{|z_{ML}|}{\left[\left(\frac{z_M}{\lambda_M} \right)^3 + \left(\frac{z_L}{\lambda_L} \right)^3 \right]^{1/3}} \quad (\text{Eq. 82})$$

where z_{ML} , z_M and z_L are the respective charges of the complex, free metal and free ligand.

This equation can easily be converted in a mobility equation, by considering the fact that conductivity is the product of electrophoretic mobility with the faraday constant:

$$\mu_{ML} = \frac{|z_{ML}|}{\left[\left(\frac{z_M}{\mu_M} \right)^3 + \left(\frac{z_L}{\mu_L} \right)^3 \right]^{1/3}} \quad (\text{Eq. 83})$$

By applying the equation 83 to our analytical conditions in the lanthanum-oxalate study, in which the free oxalate ion mobility was found to be equal to $-5.16 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (experimental data not shown), we obtain an estimated value of $1.40 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \pm 25\%$. The value determined by our method ($2.12 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) is found in the upper range of equation 83 uncertainty, which proves the potential of this estimation.

Ionic strength correction

The determined value of $\log(K)$ is equal to 4.81 ± 0.07 at $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ionic strength in an ammonium chloride media. So, Davis equation can be employed to link K° to K (the molality of the solution is approximately $0.1 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ [148]). The equation 80 can be rewritten as:

$$\log(K^\circ) = \log(K) + \Delta \log(\gamma) \quad (\text{Eq. 84})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

where:
$$\Delta \log(\gamma) = \log(\gamma(LaOxa^+)) - \log(\gamma(La^{3+})) - \log(\gamma(Oxa^{2-})) \quad (\text{Eq. 85})$$

The Davis equation permits to convert equation 85 into:

$$\Delta \log(\gamma) = A\Delta z^2 \left(C_D I - \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} \right) \quad (\text{Eq. 86})$$

where:
$$\Delta z^2 = z(LaOxa^+)^2 - z(La^{3+})^2 - z(Oxa^{2-})^2 \quad (\text{Eq. 87})$$

In our case, $\Delta z^2 = -12$ and $I = 0.1 \text{ mol.L}^{-1}$. Hence, $\Delta \log(\gamma) = +1.291$.

Finally, we obtain the following stability constant for 1:1 lanthanum-oxalate complex: $\log K^\circ = 6.10 \pm 0.10$ at infinite dilution. The obtained value is consistent with the values found in the literature and within the uncertainties range: 5.81 ± 0.10 for Wood [137] and 5.97 ± 0.10 , recalculated with the Davis equation from the value given at 0.1 mol.L^{-1} ionic strength by Schiff and Byrne [149]. The value determined in our study (6.10) is perhaps a little overestimated (considering the values found in the literature). This can be attributed to the fact that the capillary temperature is not regulated in the last ten centimeters of the capillary, due to the CE apparatus geometry. Though, the value determined in this study remains within the literature values uncertainties.

Uranium-oxalate stability constant determination

Choice of analytical conditions

As in the lanthanum-oxalate study, uranium hydrolysis has to be avoided. On the basis of a calculation with CHESS software from stability constants found in [58], uranium hydrolysis manifests above pH 3.5. Moreover, under pH 3, no complexation between uranium and oxalate occurs. Therefore the analytical pH is chosen equal to 3.5. At this pH, oxalate is partially ionised and its predominant form is bioxalate $HOxa^-$. The complexation between uranium and oxalate must undergo a deprotonation step of bioxalate, and this will be taken into account in our calculations.

Classical buffers at pH 3.5 are phosphate or acetate solutions, but their main disadvantage is their ability to complex the metal of interest. So, a pyridine buffer was used, even though its pK_A (equal to 5.1) is more than one pH unit above the analytical pH.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

As previously, the ionic strength of the background electrolyte has been chosen not too high, in order to simplify ionic strength corrections of the stability constant. The range of oxalate concentration is 0 to 10^{-4} mol.L⁻¹, so like in the case of lanthanum, the ionic strength of oxalate ions must be low in relation to total ionic strength, and only the 1:1 uranyl-oxalate complex is formed during analysis. Ammonium chloride salt was used to fix the ionic strength at 50 mmol.L⁻¹.

The uranium concentration (10^{-4} mol.L⁻¹) does not permit to observe the probable adsorption on capillary wall.

Except for the background electrolyte, whose composition has been discussed above, all other analytical conditions are the same as in table 11.

Uranium-oxalate 1:1 complex: determination of apparent stability constant

A preliminary study (data not shown) was performed in order to determine if uranyl-oxalate system can be studied as a stable system: samples containing various ratios of uranium and oxalate were injected and the separation was realized in the pyridine buffer. Whatever sample concentration of oxalate, a single peak, whose mobility corresponds to free uranyl, was detected by mass spectrometry. In other words, the uranyl-oxalate complexes formed in the sample are dissociated during the separation process, indicating their lability.

The following diagram (figure 42) shows the uranium(VI) electrophoretic mobilities variation versus oxalate concentration in the range 0 mol.L⁻¹ to 10^{-4} mol.L⁻¹ and the theoretical curves obtained by the different linear regressions. Once again, each experiment was repeated three times and the weight of each point is equal to $1/\sigma^2$ in the linear regressions. The table 13 gathers the apparent stability constant K and electrophoretic mobility of the complex $\mu(\text{UO}_2\text{Oxa})$ calculated with each linear regression, and their associated uncertainties. These values are employed to calculate the theoretical mobilities that are presented on figure 42.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

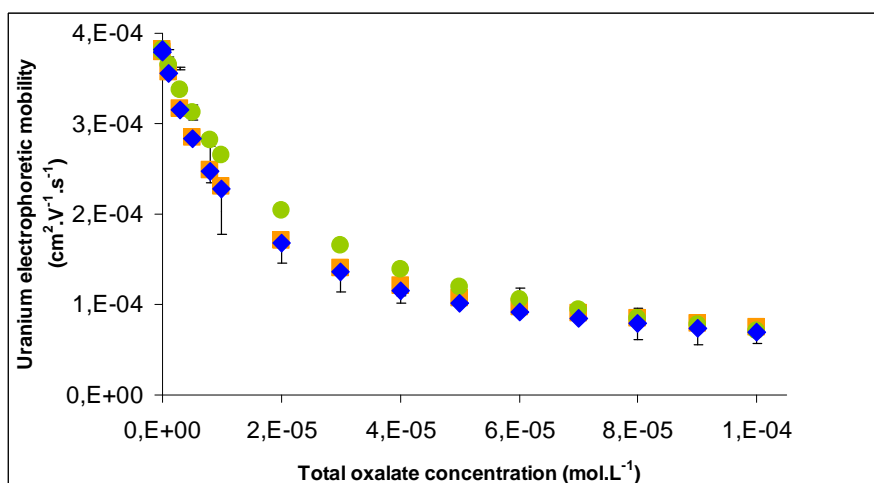


Figure 42: Evolution of uranium electrophoretic mobility with total oxalate concentration and comparison with the theoretical data calculated with linear regressions (error bars: experimental data and associated uncertainties (2σ); circles: mobility ratio difference method; diamonds: double-reciprocal, squares: Y-reciprocal; analytical conditions are described in table 11 except for the background electrolyte).

Linear correlation	Mobility ratio difference method	X-reciprocal	Y-reciprocal	Double-reciprocal
$\mu(\text{UO}_2\text{Oxa})$ ($\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$)	a priori fixed at 0	not linear	$4.00.10^{-5} \pm 100 \%$	$4.03.10^{-5} \pm 15 \%$
$\log(K_{\text{app}})$	4.64 ± 0.30	not linear	4.89 ± 0.29	4.89 ± 0.29

Table 13: Apparent stability constant K_{app} and electrophoretic mobility of the complex UO_2Oxa obtained with the different linear regressions, and associated uncertainties (2σ).

Figure 42 shows that only two linearization methods provide a good correlation between theoretical and experimental data: Y- and double-reciprocal. The X-reciprocal does not permit to linearize the experimental data, while the weighted mobility ratio difference method does not fit the experimental data very well.

Results from table 13 show a good agreement between the values of $\log(K_{\text{app}})$ and $\mu(\text{UO}_2\text{Oxa})$ obtained by Y- and double-reciprocal method. Compared to the linear regressions achieved in the lanthanum-oxalate study, the uncertainty ranges are greater. This can be due to the greater uncertainty on experimental data and to the fact that the experimental curve (figure 42) has less an exponential shape than in lanthanum-oxalate study. The double-reciprocal method obtains the better results in terms of accuracy, even though the values found for electrophoretic mobility of UO_2Oxa by Y- and double-reciprocal methods are very low and therefore consistent with the neutrality of UO_2Oxa complex. The high level of relative uncertainty of Y-reciprocal method comes probably from the low value of UO_2Oxa mobility.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Therefore, we obtain 4.89 ± 0.29 for $\log(K_{app}(UO_2Oxa))$ and $4.0 \cdot 10^{-5} \pm 0.6 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ for $\mu(UO_2Oxa)$.

Oxalate concentration correction

As mentioned previously, oxalate is partially ionised at analytical pH (3.5) and its predominant form is bioxalate $HOxa^-$. But the stability constant of uranyl-oxalate complex is calculated by assuming that the total oxalate concentration is equal to the free oxalate concentration (which is generally true when the amount of complex is low and when the pH is chosen so that the ligand is totally deprotonated). This must be taken into account to correct the stability constant value found in previous section.

In regard to the acidity constants of oxalate ($pK_{A1} = 1.25$ and $pK_{A2} = 4.25$), the fully protonated oxalic form is negligible and the concentration of free oxalate can be written:

$$[Oxa^{2-}]_{free} = \frac{[Oxa^{2-}]_{tot}}{1 + 10^{pK_{A2} - pH}} \quad (\text{Eq. 88})$$

By replacing this expression in equation 72, we obtain:

$$K = \frac{[ML]}{[M]_{free} [L]_{tot}} (1 + 10^{pK_{A2} - pH}) = K_{app} \cdot (1 + 10^{pK_{A2} - pH}) \quad (\text{Eq. 89})$$

which provides a correction factor to the stability constant, calculated at previous section.

The stability constant of uranyl-oxalate complex in an ammonium chloride media at $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ionic strength was found to be $\log(K(UO_2Oxa)) = 5.71 \pm 0.29$.

Ionic strength correction

As in the lanthanum-oxalate study, Davis equation can be employed to link K° to K because the molality of the solution is well under $0.1 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. The ionic strength correction is achieved by using the equations 84, 86 and 87 adapted to the uranyl-oxalate system and gives $\Delta z^2 = -8$ and $I = 0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Hence, $\Delta \log(\gamma) = +0.683$.

Finally, a value of 1:1 uranium-oxalate stability constant is obtained: $\log K^\circ = 6.40 \pm 0.30$ at infinite dilution. This value is consistent with the literature values: 6.23 ± 0.10 in TDB BASSIST [63], 7.13 ± 0.16 in the NEA database [58] and 7.41 ± 0.01 in a recent spectrophotometric study from Havel [127], considering their great variability. Our value is inside the variation range, which confirms the validity of CE-ICPMS for stability constant determination.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Conclusion

This study displays the good abilities of CE-ICPMS for metal complexes stability constants determination and its great advantages: low sample and electrolyte consumption, method accuracy and possibility of implementation in a radioactivity controlled area.

A method for metal complexes stability constants determination has been described in details in this paper. The binding isotherm has been written in order to link electrophoretic mobility to both ligand concentration and the stability constant. Several mathematical treatments (mobility ratio difference method, X-, Y-, double-reciprocal methods; weighted and unweighted methods) available in the literature have been presented and compared for their accuracy in stability constant determination. After that, stability constants at infinite dilution were calculated from experimental data by using Davis equation.

This method has been successfully applied for 1:1 lanthanum-oxalate stability constant determination, by paying attention on the choice of analytical conditions. The obtained value is, after ionic strength correction, $\log(K^\circ(\text{LaOxa}^+)) = 6.10 \pm 0.10$, which is consistent with literature data. At the same time, the obtained value of electrophoretic mobility of lanthanum-oxalate complex ($4.44 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) has been evaluated and discussed.

Moreover, the stability constant of uranyl-oxalate 1-1 complex has also been calculated by this method. After oxalate concentration and ionic strength corrections, we have obtained the value of $\log(K^\circ(\text{UO}_2\text{Oxa})) = 6.40 \pm 0.30$ at infinite dilution, which is located inside the variation range of literature values. This is satisfying, because, at this analytical pH of 3.5, uranium hydrolysis begins to appear and it is rather difficult to find a good buffer that does not bind uranium.

Acknowledgements

The authors are grateful to Mr. J. Aupiais, Mr. S. Topin, Mrs. A. Varenne and Mrs. S. Descroix for their helpful advices. A special acknowledgement is addressed to Mr. M. Tabarant for its conception of the capillary position optimisation system.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

IV.2.4.2. Publication n°2 :

Stability constants determination of successive metal complexes by hyphenated capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry

Journal of Analytical Atomic Spectrometry, publication soumise.

Jeremy Petit^{a*}, Jean Aupiais^b, Sylvain Topin^b, Valérie Geertsens^a, Catherine Beaucaire^c, Moncef Stambouli^d.

^a CEA/DEN/DPC/SECR/LANIE, Bâtiment 391, 91191 Gif-sur-Yvette.

^b CEA/DAM Ile de France, Bruyères-le-Châtel, 91297 Arpajon Cedex.

^c CEA/DEN/DPC/SECR/L3MR, Bâtiment 459, 91191 Gif-sur-Yvette.

^d Ecole Centrale Paris / Laboratoire de Génie des Procédés et Matériaux, 92295 Châtenay-Malabry.

* Corresponding author. Tel.: +33 1 69 08 18 47. E-mail address: jeremy.petit@cea.fr.

Keywords

Hyphenation ; Capillary Electrophoresis ; Stability Constants ; Complexation ; Uranyl-oxalate ; Lanthanum-oxalate.

Abstract

The study of radionuclides speciation requires accurate evaluation of stability constants, which can be achieved by CE-ICPMS. We have previously described a method for 1:1 metal complexes stability constants determination. In this paper, we present its extension to the case of successive complexations and its application to uranyl-oxalate and lanthanum-oxalate systems. Several significant steps are discussed: analytical conditions choice, mathematical treatment by non-linear regression, ligand concentration and ionic strength corrections.

The following values were obtained: at infinite dilution, $\log(\beta_1^\circ(\text{UO}_2\text{Oxa})) = 6.93 \pm 0.05$, $\log(\beta_2^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_2^{2-})) = 11.92 \pm 0.43$ and $\log(\beta_3^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_3^{4-})) = 15.11 \pm 0.12$; $\log(\beta_1^\circ(\text{LaOxa}^+)) = 5.90 \pm 0.07$, $\log(\beta_2^\circ(\text{La}(\text{Oxa})_2^-)) = 9.18 \pm 0.19$ and $\log(\beta_3^\circ(\text{La}(\text{Oxa})_3^{3-})) = 9.81 \pm 0.33$. These values are in good agreement with the literature data, even though we suggest the existence of a new lanthanum-oxalate complex: $\text{La}(\text{Oxa})_3^{3-}$. This study confirms the suitability of CE-ICPMS for complexation studies.

Introduction

Many analytical techniques are suitable for direct speciation analysis: UV/vis. spectrophotometry, conductimetry, potentiometry or species-selective techniques such as Mössbauer spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), electron spin resonance spectroscopy (ESR) or electrochemical techniques [6], but these

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

analytical techniques usually fail at trace levels in a real-sample matrix. In this case, the speciation study resorts to hyphenated techniques [7,128]: the species-selectivity is achieved by chromatography or electrophoresis, whereas element-selectivity and sensitivity are obtained by atomic spectrometry. Recent improvements in CE-ICPMS hyphenation and developments of commercial interfaces allow CE-ICPMS to be regarded as an attractive technique for speciation studies [4,5,19,106,139,150], gathering many advantages: low sample and electrolyte consumption, better respect of metal speciation, high sensitivity, possibility of implementation in a radiological controlled area, etc[3]. For all these reasons, CE-ICPMS was preferred to other techniques for our study.

The nuclear energy development has raised new research topics in the past years, such as the radionuclides speciation in the environment. This issue is crucial in the context of nuclear waste repository, because the physico-chemical forms of an element rule its biochemical properties like toxicity, bioavailability and mobility. It requires an accurate determination of stability and kinetic rate constants between radionuclides and naturally occurring ligands. That's why our work is concentrated on the determination of uranium(VI)-oxalate and lanthanum(III)-oxalate, whose stability constants have rarely been determined with hyphenated techniques. Uranium and lanthanum are representative elements for actinides and lanthanides respectively, whereas oxalate is a small organic compound with good complexation abilities, ubiquitous in natural waters[9,12].

The analytical method for stability constants determination depends on the stability or lability of the studied complex. In order to guess its behaviour, Sonke and Salters [135] have built a diagram representing the complex stability areas, according to their stability and kinetic rate constants. We have established the lability of the uranyl-oxalate and the lanthanum-oxalate complexes in a previous article [150]. In CE, the most common method used to estimate labile complexes stability constants is named ACE (affinity capillary electrophoresis [139]) and involves measuring the electrophoretic mobility variation of a metal ion with the concentration of ligand in the buffered electrolyte. This method, developed to calculate the 1:1 metal-to-ligand ratio stability constants, has been described previously [150] and the aim of the present study is to extend it to superior order complexes of labile systems, which has little been published in the literature.

This paper will thus describe the analytical method used for successive metal complexes stability constant determination in labile systems. The binding isotherm in the case of successive complexations will be evaluated and used for non-linear regression of experimental data. This innovative method will be applied to determine the stability constants and the electrophoretic mobilities of lanthanum-oxalate and uranium-oxalate systems.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Material and methods

Chemical and reagents

The make-up solution of 1 mol.L⁻¹ nitric acid was prepared by dilution of Plasmasure nitric acid (SCP Science) in deionised water (Millipore, Bedford, USA).

Samples containing uranium or lanthanum and background electrolytes with various oxalate concentration were prepared as described previously [150]. Uranium and lanthanum concentration (10⁻⁴ mol.L⁻¹) does not permit to observe their probable adsorption on capillary wall. The background electrolytes are based on non-binding buffers: pyridine at pH 3.5 for the uranyl-oxalate study and MES [145] at pH 6 for the lanthanum-oxalate study. The ionic strength of both electrolytes was adjusted to 0.1 mol.L⁻¹ with ammonium chloride. Dimethylsulfoxide was chosen as neutral marker.

The capillary was washed with pure ethanol (Fluka), deionised water, 1 mol.L⁻¹ sodium hydroxide (Acros Organics) and 1 mol.L⁻¹ hydrochloric acid (Sigma-Aldrich) solutions.

Capillary electrophoresis

A capillary electrophoresis P/ACE MDQ (Beckman Coulter, Inc., Fullerton, USA) provided with a capillary cartridge support designed for the adaptation of an external detector was used. Fused-silica capillaries (50 µm i.d., 360 µm o.d., 70 cm total length) purchased from Beckman Coulter (Fullerton, USA) were employed. Analytical conditions are gathered in table 14.

CE voltage	20 kV
Applied pressure	0.5 psi (i.e. 3.5 . 10 ³ Pa)
CE capillary	Fused silica, 50 µm i.d., 360 µm o.d., 70 cm length
Sample	10 ⁻⁴ mol.L ⁻¹ U(VI) or La(III) + dimethylsulfoxide as neutral marker
Sample injection	Hydrodynamic 0.5 psi (i.e. 3.5 . 10 ³ Pa) during 10s (V _{inj} ≈ 1% V _{tot})
Background electrolyte	pyridine buffer pH = 3.5 or MES buffer pH = 6 + various concentrations of oxalate + NH ₄ Cl to fix ionic strength at I _{tot} = 100 mmol.L ⁻¹

Table 14 : Analytical conditions.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

The role and the calculation of electroosmotic and electrophoretic mobilities were explained in depth in a previous paper [150]. UV detection at 214 nm was mainly used for electroosmotic mobility calculation.

The temperature discrepancy between the capillary centre and the coolant liquid was estimated by means of an equation found there[151], linking the temperature discrepancy to the rate of power generation, the electric field strength and parameters inherent to the capillary, the buffer and the surrounding medium. A difference of 1.5°C is obtained in our analytical conditions, which is satisfying for a complexation study.

ICPMS

An inductively coupled plasma mass spectrometer (Element 2, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) was used for MS measurements of migration time of uranium or lanthanum. ICPMS day-to-day calibration was realized as described in this paper [150].

The way to calculate metal electrophoretic mobilities from apparent and electroosmotic mobilities, named double detection [19], has been applied previously⁵ to calculate the reference values for free uranyl ion ($3.81 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) and free lanthanum ion ($4.44 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) electrophoretic mobilities.

The main equation of the double detection is remembered here:

$$\mu_{ep}(M) = \mu_{app} - \mu_{eo} = \frac{L}{U} \left(\frac{L}{t_{MS}(M)} - \frac{l}{t_{UV}(DMSO)} \right) \quad (\text{Eq.90})$$

where $\mu_{ep}(M)$ designates the electrophoretic mobility of metal ion M; μ_{app} , its apparent mobility; μ_{eo} , the electroosmotic mobility; L, the total capillary length; l, the capillary length between inlet and UV window; U, the applied voltage; $t_{MS}(M)$, the migration time of metal ion M, measured by mass detection, and $t_{UV}(DMSO)$, the migration time of neutral marker, obtained by UV detection.

CE-ICPMS interface

The commercial Mira Mist CE interface supplied with its Teflon micro-chamber (Bürgener Research, Mississauga, Ontario, Canada) was used to overcome the main issues encountered in the CE-ICP-MS hyphenation: the flow rate discrepancy between both instrument, the closing of the CE electrical circuit and the suction effect, responsible for the laminar flow induced in the capillary. Capillary position (toward nebulizer tip) and capillary length have been optimized [150]. The $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HNO_3 make-up liquid is delivered at $15 \mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ by a syringe pump.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Software

In this study, the speciation diagrams of uranium and lanthanum in the presence of oxalates were determined with CHESS software (Mines, Paris).

The non-linear regressions of experimental data have been realized with Origin software (OriginLab, Northampton, USA) by least squares method (minimization of the square of the difference between the experimental value and the model value).

Results and discussion

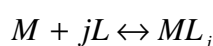
Stability constants determination for metal complexes

Binding isotherm

First, some requirements must be respected to obtain accurately results by ACE⁷ and they are briefly remembered in this section: first, the electrophoretic mobility of the metal must change with ligand addition in the background electrolyte and this criterion is satisfied if both metal and ligand are charged. Secondly, the equilibrium time scale must be shorter than the CE analysis time, which is true for kinetically fast systems, like labile complexes[128,143].

It should be noted that the change in metal ion electrophoretic mobility must be solely generated by the complexation of the metal with the ligand. Interfering phenomena such as metal hydrolysis or additional complexation (for instance, by bicarbonates arising from atmospheric carbon dioxide dissolved) can be avoided by paying attention at the analytical conditions choice.

Then, the binding isotherm in the case of successive complexations is obtained by means of equilibrium considerations. When the metal-ligand interaction leads to the formation of successive complexes of metal M with ligand L, *i.e.* ML_j-type complexes, the following equilibrium equation can be written for each complex ML_j (j = 1,n where n is the limit complex order):



The mass action law, describing the chemical equilibrium at a given ionic strength, is written:

$$\beta_j = \frac{[ML_j]}{[M]_{free}[L]^j} \quad (\text{Eq.91})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

where β_j is the global stability constant of ML_j complex; $[ML_j]$, $[M]_{free}$ and $[L]$ are respectively the equilibrium concentrations of the complex j , free metal and free ligand. As a rule, β_0 can be taken equal to 1, by replacing j by 0 in (Eq.91). This parameter does not correspond to a stability constant, but is used in this paper to simplify the formalism of concerned equations. Equation (91) is now true for j varying from 0 to n .

In the case of labile systems, all the metallic species behave as a single compound, whose electrophoretic mobility is the weighted average of all individual species electrophoretic mobilities. Therefore, the metal ion electrophoretic mobility $\mu_{ep}(M)$ is written:

$$\mu_{ep}(M) = \sum_{j=0}^n \alpha_j \mu(ML_j) \quad (\text{Eq.92}) [143,150]$$

where $\mu_{ep}(M)$ is the experimentally measured electrophoretic mobility, α_j the molar fraction of ML_j complex and $\mu(ML_j)$ the electrophoretic mobility of the ML_j complex (or of free metal M for $j = 0$).

The molar fractions α_j can be expressed as:

$$\alpha_j = \frac{[ML_j]}{[M]_{tot}} = \frac{[ML_j]}{\sum_{i=0}^n [ML_i]} \quad (\text{Eq.93})$$

By combining equations (92) and (93), the electrophoretic mobility of a labile metal ion can be rewritten as:

$$\mu_{ep}(M) = \frac{\sum_{j=0}^n [ML_j] \cdot \mu(ML_j)}{\sum_{j=0}^n [ML_j]} \quad (\text{Eq.94})$$

The mass action law enables to express the ML_j complex concentration in this way:

$$[ML_j] = [M]_{free} \cdot \beta_j \cdot [L]^j \quad (\text{Eq.95})$$

And this can be combined with (Eq.94) in order to obtain the binding isotherm in the case of multiple complexations:

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

$$\mu_{ep}(M) = \frac{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j \cdot \mu(ML_j)}{\sum_{j=0}^n \beta_j \cdot [L]^j} \quad (\text{Eq.96})$$

This binding isotherm can be used to determine stability constants by a non-linear regression, as it links global electrophoretic mobility of a metal ion with its successive apparent stability constants, electrophoretic mobilities of the ML_j complexes and ligand concentration.

Non-linear regression of the binding isotherm

Since $\mu(M)$ can be previously determined, equation (96) uses $2n$ unknown parameters (n designates the number of successive complex), whose values can be determined by non-linear regression of experimental data. Therefore, at least $2n+1$ experiments must be performed to obtain a satisfactory fitting and accurate stability constants.

Moreover, the binding isotherm must be properly used to obtain reliable results. In our method, the total metal concentration must be kept constant. Moreover, it is common in practice to consider that the free ligand concentration is equal to the total ligand concentration. This condition may be true when a low concentration of metal (inferior to one order of magnitude under ligand concentration) is employed or when the stability constant is low. When this criterion is not satisfied, a correction of ligand concentration must be done. Thirdly, the larger is the ligand concentration range, the more accurate are the evaluated stability constants; ideally, the experimental binding isotherm should begin and end with plateaus [139,143,150]. Some complexes may have a narrow (or even no) predominance area, which means greater uncertainties.

For a system with several complexes, the mathematical treatment of experimental data can only be achieved by non-linear regressions, in opposition to the case of a single complex [150]. Weighted regressions are known to give the best results in terms of stability constant accuracy. The weight of each experimental value is given by $1/\sigma^2$, where σ represents the electrophoretic mobility standard deviation for three experiments. This regression allows to determine simultaneously β_j and $\mu(ML_j)$ for $j = 1-n$.

Assuming that electrophoretic mobilities relative uncertainties are well greater than stability constants ones and that electrophoretic mobilities and stability constants determinations are not independent (as their product is optimized by means of the non-linear regression), the uncertainties of β_j ($j = 1-n$) are intricate to calculate. However, electrophoretic mobilities are generally on the order of $10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

which restricts the possible values for stability constants in the fitting procedure and also their uncertainties. So the stability constants uncertainties can be majored by the variation range of the stability constants, when an error of 25 % is applied to mobilities $\mu(\text{ML}_j)$. Indeed, electrophoretic mobilities uncertainties are generally expected to be inferior to 25%. A calculation gives the values β_j^+ obtained when the mobilities are fixed to $\mu(\text{ML}_j) + 25\%$, and the same can be done for β_j^- , for which the calculation is done with mobilities fixed to $\mu(\text{ML}_j) - 25\%$. Therefore, the uncertainty of β_j is given by $2\sigma = (\beta_j^+ - \beta_j^-)/2$ and corresponds to 95% confidence level.

Calculation of thermodynamic stability constants

Then, from the apparent value determined with equation (96) by non-linear regression, the thermodynamic stability constants β_j° (at infinite dilution) can be calculated by using the following equation, an adaptation of mass action law:

$$\log(\beta_j^\circ) = \log(\beta_j) + \Delta \log(\gamma) \quad (\text{Eq. 97})$$

$$\text{where: } \Delta \log(\gamma) = \log(\gamma(\text{ML}_j)) - \log(\gamma(\text{M})) - j \cdot \log(\gamma(\text{L})) \quad (\text{Eq.98})$$

and $\gamma(\text{ML}_j)$, $\gamma(\text{M})$, $\gamma(\text{L})$ are the respective activity coefficients of complex ML_j , free metal M and free ligand L.

The activity coefficients can be estimated with various ionic strength correction equations, such as the Debye-Hückel equations, the Davis equation or the Specific Interaction Theory [57]. The choice is depending on the background electrolyte ionic strength and in this study, the relatively simple Davis equation was used:

$$\log \gamma_i = -A z_i^2 \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + A z_i^2 C_D I \quad (\text{Eq. 99})$$

where A is a modelling parameter equal to 0.5091 at 25°C, z_i is the charge of the considered ion, I the ionic strength of the background electrolyte and C_D another modelling parameter taken equal to 0.3.

Thus, $\Delta \log(\gamma)$ is written:

$$\Delta \log(\gamma) = \Delta z^2 \cdot \left(-A \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + A C_D I \right) \quad (\text{Eq.100})$$

$$\text{where: } \Delta z^2 = z(\text{ML}_j)^2 - z(\text{M})^2 - j \cdot z(\text{L})^2 \quad (\text{Eq.101})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Uranyl-oxalate stability constants determination

Speciation diagram and non-linear regression of experimental data

A speciation diagram of uranium in the presence of oxalates was plotted in our analytical conditions, in order to facilitate the non-linear regression of experimental data. This speciation diagram is based on the uranyl-oxalate stability constants from the NEA database [58]. Indeed, the latter can be realized step by step, as it will be shown at the end of this section. This diagram, giving the predominance areas of each uranyl-oxalate complex, is shown figure 43.

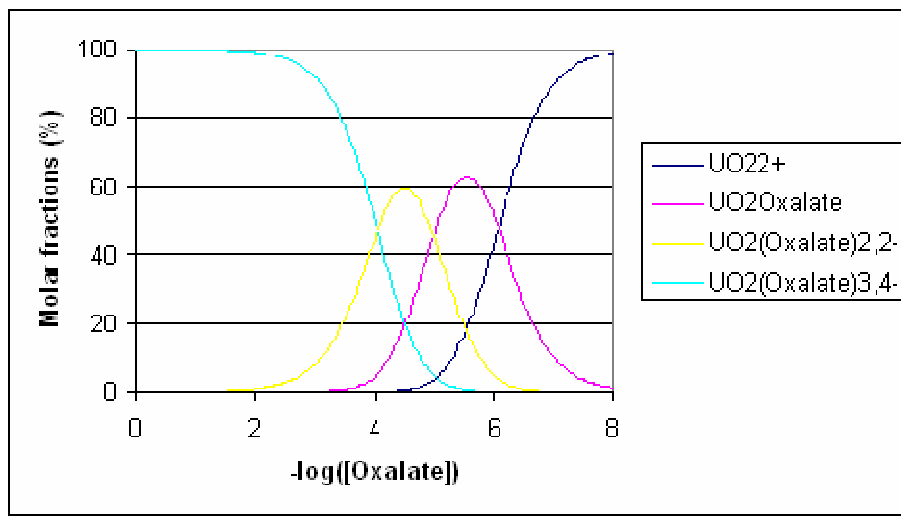
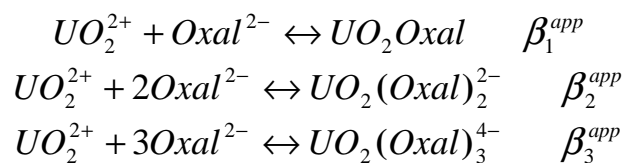


Figure 43: Speciation diagram for uranyl-oxalate system.

Total uranium concentration is fixed to $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Complexation of uranium with hydroxyl or carbonate ions can be neglected at the low analytical pH of 3.5.

It can be observed from this diagram that the number of ligands bound to uranium increases with oxalate concentration, which is consistent. The predominance area of 1:1 and 1:2 complexes are limited, so more experimental points must be acquired in these oxalate concentration ranges to obtain accurate results.

It is generally assumed in the literature and illustrated by the speciation diagram above (figure 43) that uranyl ion can form 3 successive complexes with ligand oxalate, according to the following equilibrium equations:



IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

The binding isotherm (Eq.96) can be rewritten in the case of the uranyl-oxalate system:

$$\mu_{ep}(U(VI)) = \frac{\mu(UO_2^{2+}) + \beta_1^{app}[L]\mu(UO_2Oxal) + \beta_2^{app}[L]^2\mu(UO_2(Oxal)_2^{2-}) + \beta_3^{app}[L]^3\mu(UO_2(Oxal)_3^{4-})}{1 + \beta_1^{app}[L] + \beta_2^{app}[L]^2 + \beta_3^{app}[L]^3} \quad (\text{Eq.102})$$

We have performed the CE-ICPMS analysis of the same uranium sample for several oxalate concentrations in the background electrolyte. According to figure 43, the oxalate concentration range (from 10^{-8} to 10^{-4} mol.L⁻¹) is sufficiently wide to observe the formation of all complexed forms. The non-linear regression of equation (102) is realized in three steps, described below.

First, in the oxalate concentration range from 0 to $6.3 \cdot 10^{-7}$ ($10^{-6.2}$) mol.L⁻¹, free uranyl and 1:1 uranyl-oxalate complex are the only uranium species in solution. In this range, the binding isotherm can be simplified to:

$$\mu_{ep}(U(VI)) = \frac{\mu(UO_2^{2+}) + \beta_1^{app}[L]\mu(UO_2Oxal)}{1 + \beta_1^{app}[L]} \quad (\text{Eq.103})$$

$\mu(UO_2^{2+}) = 3.81 \cdot 10^{-4}$ cm².V⁻¹.s⁻¹ $\pm 2\%$ ⁵, and $\mu(UO_2Oxal)$ is equal to 0 because UO_2Oxal is a neutral complex. β_1^{app} is the only unknown parameter of equation (103) and can thus be evaluated with a low level of uncertainty by non-linear regression of (Eq.103).

Then, in the oxalate concentration range from $6.3 \cdot 10^{-7}$ to $6.3 \cdot 10^{-6}$ ($10^{-5.2}$) mol.L⁻¹, the 1:2 uranyl-oxalate complex appears. The binding isotherm (Eq.102) becomes, for the range 0 to $6.3 \cdot 10^{-6}$ mol.L⁻¹:

$$\mu_{ep}(U(VI)) = \frac{\mu(UO_2^{2+}) + \beta_1^{app}[L]\mu(UO_2Oxal) + \beta_2^{app}[L]^2\mu(UO_2(Oxal)_2^{2-})}{1 + \beta_1^{app}[L] + \beta_2^{app}[L]^2} \quad (\text{Eq.104})$$

where both $\mu(UO_2(Oxal)_2^{2-})$ and β_2^{app} are unknown parameters. The non-linear regression of experimental data in this oxalate concentration range will also provide an estimation of these parameters with a low level of uncertainty.

Finally, the experimental data in the whole oxalate concentration range will be fitted by a non-linear regression of the binding isotherm (Eq.102), where the only unknown parameter is β_3^{app} . Indeed, $\mu(UO_2(Oxal)_3^{4-})$ is equal to the U(VI) electrophoretic mobility in excess of ligand oxalate, i.e. $-3.4 \cdot 10^{-4}$ cm².V⁻¹.s⁻¹ $\pm 25\%$. So, β_3^{app} can be determined with a low level of uncertainty.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

The figure 44 shows the electrophoretic mobilities of uranium(VI) measured with various oxalate concentrations in the range 0 to 10^{-1} mol.L⁻¹ and the fitting curve obtained from non-linear regression. The error bars corresponds to 2σ , where σ is the relative standard deviation for three acquisitions of uranium electrophoretic mobility.

The table 15 gathers the apparent stability constants β_j ($j = 1-3$) and electrophoretic mobilities $\mu(\text{ML}_j)$ calculated by using the binding isotherm (Eq.102) with their associated uncertainties.

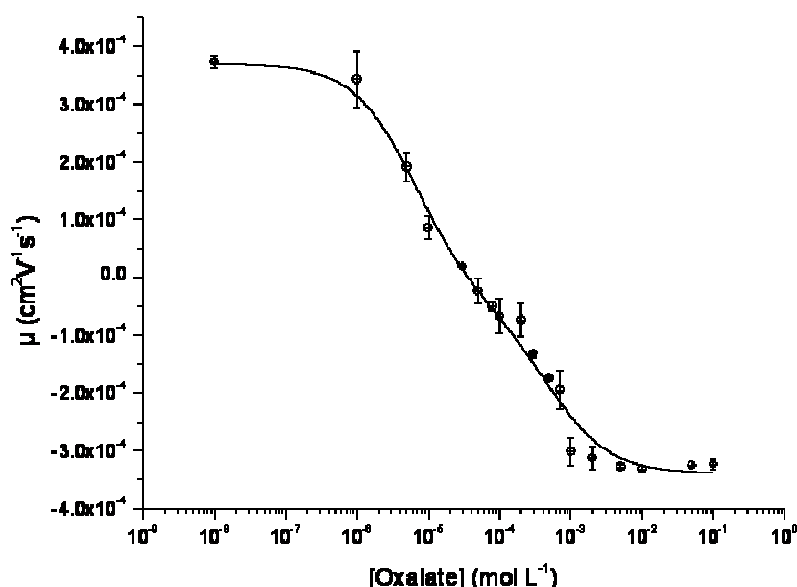


Figure 44: Evolution of uranium electrophoretic mobility
with total oxalate concentration and non-linear fitting
(circles and error bars: experimental data; continuous line: non-linear correlation curve using
the binding isotherm; analytical conditions are described in table 14).

Complex	UO ₂ Oxa (j = 1)	UO ₂ (Oxa) ₂ ²⁻ (j = 2)	UO ₂ (Oxa) ₃ ⁴⁻ (j = 3)
$\mu(\text{ML}_j)$ (cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	0	-0.9.10 ⁻⁴	-3.4.10 ⁻⁴
log ($\beta_{j,\text{app}}$)	5.25 ± 0.04	9.42 ± 0.37	12.65 ± 0.10

Table 15: Apparent stability constants $\beta_{j,\text{app}}$ ($j = 1-3$) and electrophoretic mobilities $\mu(\text{ML}_j)$ of
the uranyl-oxalate system evaluated by non-linear correlation.
Associated uncertainties correspond to 2σ .

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

As shown in figure 44, the non-linear regression based on (Eq.102), fits well the experimental data, which assures that the obtained stability constants are rather reliable. Furthermore, table 15 shows that the non-linear regression leads to coherent values of stability constants and their associated uncertainties: β_j^{app} increases with j , which is logical for successive complexes. Polynuclear complexes - i.e. complexes with more than one uranyl ion - are assumed not to be formed at this relatively low uranium concentration (10^{-4} mol.L⁻¹ in the sample).

The results for electrophoretic mobilities are consistent too: electrophoretic mobility decreases with the charge of the complex.

Oxalate concentration correction

Oxalate is partially ionised at analytical pH of 3.5 and its predominant form is bioxalate HOxa⁻. But the apparent stability constants of uranyl-oxalate system are calculated by assuming that the total oxalate concentration is equal to the free oxalate concentration (which is generally true when the amount of complex is low and when the pH is chosen so that the ligand is totally deprotonated).

In regard to the acidity constants of oxalate ($\text{pK}_{a1} = 1.40$ and $\text{pK}_{a2} = 4.25$ [58]), the fully protonated oxalic form is negligible at pH 3.5 and the concentration of free oxalate can be written:

$$[\text{Oxa}^{2-}]_{\text{free}} = \frac{[\text{Oxa}^{2-}]_{\text{tot}}}{1 + 10^{\text{pK}_{a2} - \text{pH}}} \quad (\text{Eq.105})$$

By replacing this expression in equation (91), we obtain:

$$\beta_j = \frac{[ML_j]}{[M]_{\text{free}} [L]_{\text{tot}}^j} (1 + 10^{\text{pK}_{a2} - \text{pH}})^j = \beta_{j,\text{app}} \cdot (1 + 10^{\text{pK}_{a2} - \text{pH}})^j \quad (\text{Eq.106})$$

which provides a correction factor to the apparent stability constants from table 15.

The real stability constants determined in our analytical conditions are listed here : $\log(\beta_1^\circ(\text{UO}_2\text{Oxa})) = 6.93 \pm 0.05$, $\log(\beta_2^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_2^{2-})) = 11.92 \pm 0.43$ and $\log(\beta_3^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_3^{4-})) = 15.11 \pm 0.12$. The associated uncertainties were recalculated by considering the same relative uncertainty for $\beta_{j,\text{app}}$ and β_j .

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Ionic strength correction

The combination of equations (97), (100) and (101) leads to the ionic strength correction equation for uranyl-oxalate system:

$$\log(\beta_j^\circ) = \log(\beta_j) + \Delta z^2 \cdot \left(-A \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + AC_D I \right) \quad (\text{Eq.107})$$

$$\text{with: } \Delta z^2 = (2 - 2j)^2 - 2^2 - j(-2)^2 = 4j(j - 3) \quad (\text{Eq.108})$$

Indeed, the molality of the solution is around 0.1 mol.kg⁻¹, so the Davis equation is applicable.

The values of uranyl-oxalate stability constants at infinite dilution are given in table 16 and a comparison is done with the literature values.

Complex	UO ₂ Oxa (j = 1)	UO ₂ (Oxa) ₂ ²⁻ (j = 2)	UO ₂ (Oxa) ₃ ⁴⁻ (j = 3)
Δz^2	-8	-8	0
$\log(\beta_j^\circ)$ – this study	6.93 ± 0.05	11.92 ± 0.43	15.11 ± 0.12
$\log(\beta_j^\circ)$ – TDB NEA [58]	7.13 ± 0.16	11.65 ± 0.15	13.8 ± 1.50
$\log(\beta_j^\circ)$ – Havel <i>et al.</i> [127]	7.41 ± 0.01	11.80 ± 0.02	13.96 ± 0.07
$\log(\beta_j^\circ)$ – TDB BASSIST [63]	6.23 ± 0.10	10.42 ± 0.10	11.00 (not reliable)

Table 16: Thermodynamic stability constants β_j (j = 1-3) of the uranyl-oxalate system at infinite dilution and comparison with literature values.

The stability constants obtained in this study are consistent with the literature values. The discrepancy of β_3° with literature values can be explained by the fact that the background electrolyte ionic strength is probably not well fixed at high oxalate concentrations. Perhaps the ionic strength was increased, which induced a bias in uranium electrophoretic mobility, incorrectly attributed to oxalate complexation. However that may be, our value for β_3° remains in the uncertainty range given by the NEA review, which proves its validity.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Lanthanum-oxalate stability constants determination

Speciation diagram and non-linear regression of experimental data

A speciation diagram of lanthanum in the presence of oxalates, based on the lanthanum-oxalate stability constants from this review from Wood [137], was plotted (figure 45) in our analytical conditions. This diagram can be used to facilitate the non-linear regression of experimental data.

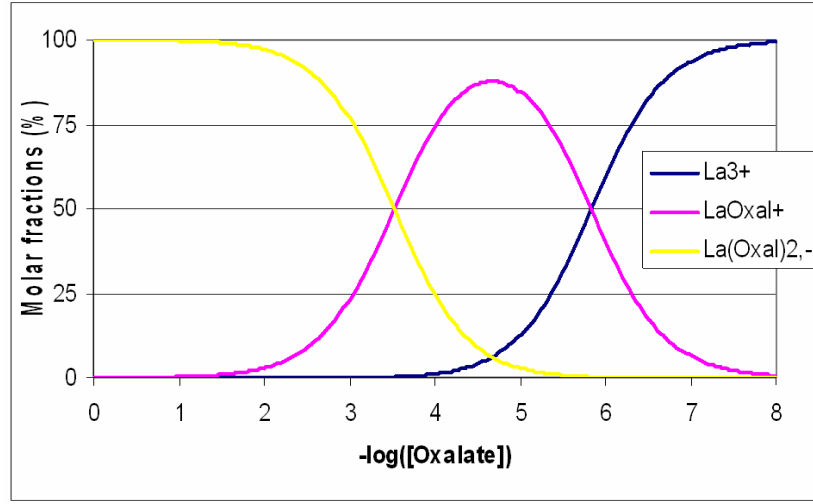


Figure 45: Speciation diagram for lanthanum-oxalate system.

Total lanthanum concentration is fixed to $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Complexation of lanthanum with hydroxyl or carbonate ions can be neglected at the analytical pH of 6.

In CE-ICPMS, the binding isotherm [140,143] describes completely the lanthanum-oxalate interaction, which leads to the formation of two complexes [137,149]:

$$\mu_{ep}(\text{La(III)}) = \frac{\mu(\text{La}^{3+}) + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}]\mu(\text{LaOxal}^+) + \beta_2[\text{Oxal}^{2-}]^2\mu(\text{La(Oxal)}_2^-)}{1 + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}] + \beta_2[\text{Oxal}^{2-}]^2} \quad (\text{Eq.109})$$

The non-linear regression of Eq. (109) was realized in two steps: in the oxalate concentration range from 0 to $3.2 \cdot 10^{-6}$ ($10^{-5.5}$) mol.L^{-1} (according to figure 45), La^{3+} and LaOxal^+ are assumed to be the only lanthanum species in solution and the binding isotherm becomes:

$$\mu_{ep}(\text{La(III)}) = \frac{\mu(\text{La}^{3+}) + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}]\mu(\text{LaOxal}^+)}{1 + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}]} \quad (\text{Eq.110})$$

For oxalate concentrations above $3.2 \cdot 10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$, both La^{3+} , LaOxal^+ and La(Oxal)_2^- are found in solution (cf figure 45) and experimental data can be fitted with the whole (Eq.109).

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

As $\mu(\text{La}^{3+})$ has been measured previously, β_1 and $\mu(\text{LaOxal}^+)$ uncertainties are expected to be low. The same is true for β_2 and, because $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_2^-)$ is expected to be the value obtained at the highest oxalate concentrations.

The figure 46 shows the electrophoretic mobilities of lanthanum(III) measured with various oxalate concentrations in the range 0 to $10^{-1} \text{ mol.L}^{-1}$ and the fitting curve obtained from non-linear regression. According to figure 45, the oxalate concentration range is sufficiently wide to observe the formation of all complexed forms. The error bars corresponds to 2σ , where σ is the relative standard deviation for three acquisitions of uranium electrophoretic mobility.

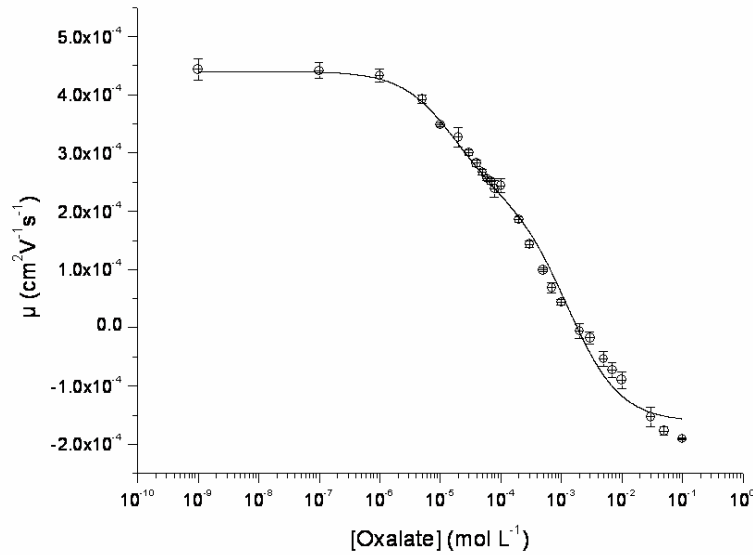


Figure 46: Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and non-linear fitting considering two complexed forms
(circles and error bars: experimental data and associated uncertainties (2σ);
continuous line: non-linear correlation curve using (Eq. 109) and (Eq. 110);
analytical conditions are described in table 14).

As shown in figure 46, the non-linear regression based on (Eq.109), fits well the experimental data under $3.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$, which suggests that the determined stability constants and electrophoretic mobilities are rather correct. The obtained values are the following: $\log(\beta_1) = 4.80$, $\log(\beta_2) = 7.69$, $\mu(\text{LaOxal}^+) = 2.2 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$ and $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_2^-) = -1.6 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$. However, the non-linear regression, by taking into account two complexed forms, does not permit to describe totally the lanthanum-oxalate system, as the theoretical curve does not fit the experimental data for oxalate concentrations above $3.10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$. This can be explained by the presence of an additional lanthanum-oxalate complex at highest oxalate concentration. As polynuclear species are assumed not to be formed at this relatively low lanthanum

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

concentration (10^{-4} mol.L⁻¹ in the sample), we suggest the presence of the 1-3 lanthanum-oxalate complex: $\text{La}(\text{Oxal})_3^{3-}$.

Addition of a superior order complex

The fitting procedure was also reiterated, by considering three complexed forms in the lanthanum-oxalate system. The binding isotherm is then rewritten:

$$\mu_{ep}(\text{La(III)}) = \frac{\mu(\text{La}^{3+}) + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}]\mu(\text{LaOxal}^+) + \beta_2[\text{Oxal}^{2-}]^2\mu(\text{La}(\text{Oxal})_2^-) + \beta_3[\text{Oxal}^{2-}]^3\mu(\text{La}(\text{Oxal})_3^{3-})}{1 + \beta_1[\text{Oxal}^{2-}] + \beta_2[\text{Oxal}^{2-}]^2 + \beta_3[\text{Oxal}^{2-}]^3} \quad (\text{Eq.111})$$

In this case, uncertainties of β_1 , β_3 , $\mu(\text{LaOxal}^+)$ and $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_3^{3-})$ are expected to be lower than uncertainties of β_2 and $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_2^-)$. The figure 47 represents the non-linear fitting based on (Eq.111).

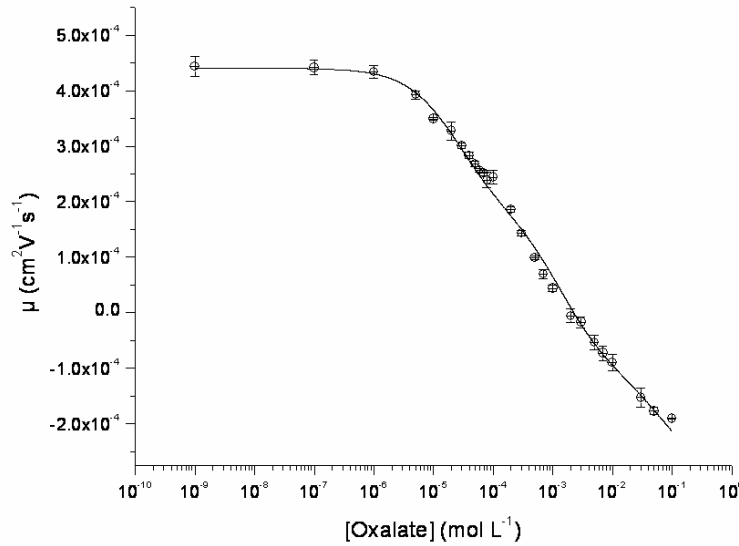


Figure 47: Evolution of lanthanum electrophoretic mobility with total oxalate concentration and non-linear fitting considering three complexed forms
(circles and error bars: experimental data and associated uncertainties (2σ);
continuous line: non-linear correlation curve using (Eq. 111);
analytical conditions are described in table 14).

The non-linear fitting in figure 47 leads to the following values: $\log(\beta_1) = 4.60 \pm 0.07$, $\log(\beta_2) = 7.45 \pm 0.07$, $\log(\beta_3) = 8.50 \pm 0.33$, $\mu(\text{LaOxal}^+) = 1.8 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$, $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_2^-) = -1.1 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$ and $\mu(\text{La}(\text{Oxal})_3^{3-}) = -3.1 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$. The figure 47 indicates that the whole experimental data are better modelled by using (Eq.111) than (Eq.109).

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

The final plateau is not reached, so uncertainties relative to the third complex are higher than expected.

Ionic strength correction

The following equation is the ionic strength equation adapted to the lanthanum-oxalate system.

$$\log(\beta_j^\circ) = \log(\beta_j) + \Delta z^2 \cdot \left(-A \frac{\sqrt{I}}{1 + \sqrt{I}} + AC_D I \right) \quad (\text{Eq.107})$$

$$\text{with: } \Delta z^2 = (3 - 2n)^2 - 3^2 - n(-2)^2 = 4n(n - 4) \quad (\text{Eq.112})$$

The calculated values of lanthanum-oxalate stability constants at infinite dilution are listed in table 17 and literature values are given for comparison.

Complex	LaOxa ⁺ (j = 1)	La(Oxa) ₂ ⁻ (j = 2)	La(Oxa) ₃ ³⁻ (j = 3)
Δz^2	-12	-16	-12
$\log(\beta_j^\circ)$ – this study	5.90 ± 0.07	9.18 ± 0.19	9.81 ± 0.33
$\log(\beta_j^\circ)$ – Wood [137]	5.83 ± 0.10	9.35 ± 0.10	not determined
$\log(\beta_j^\circ)$ – Schijf and Byrne [149]	5.87 ± 0.06	10.42 ± 0.10	not determined

Table 17: Thermodynamic stability constants β_j (j = 1-3) of the lanthanum-oxalate system at infinite dilution and comparison with literature values.

The stability constants calculated in this study are in good agreement with literature values, especially for β_1° . The fact that the third complex has not been taken into account in the literature [137,149] can probably explain the relatively low value obtained for β_2° in our study. Our study proves the existence of a third complex in lanthanum-oxalate system, with a weak stability.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Conclusion

The good abilities of CE-ICPMS for metal complexes stability constants determination have been presented in a previous paper⁵ and are confirmed in the current study.

The binding isotherm is a powerful tool to access to metal complexation, especially in the case of labile complexes. Some requirements need to be respected in order to obtain low level of stability constants uncertainties. This method provides supplementary information with the determination of complexes electrophoretic mobilities, which are generally unknown in literature.

This method has been successfully applied to uranyl-oxalate system and accurate results were obtained: $\log(\beta_1^\circ(\text{UO}_2\text{Oxa})) = 6.93 \pm 0.05$, $\log(\beta_2^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_2^{2-})) = 11.92 \pm 0.43$ and $\log(\beta_3^\circ(\text{UO}_2(\text{Oxa})_3^{4-})) = 15.11 \pm 0.12$. These values are consistent with our previous study and with literature data. Simultaneously, the electrophoretic mobilities of the complexes have been determined.

Likewise the lanthanum-oxalate stability constants have been evaluated by this extended method and accurate results were obtained: $\log(\beta_1^\circ(\text{LaOxa}^+)) = 5.90 \pm 0.07$, $\log(\beta_2^\circ(\text{La}(\text{Oxa})_2^-)) = 9.18 \pm 0.19$ and $\log(\beta_3^\circ(\text{La}(\text{Oxa})_3^{3-})) = 9.81 \pm 0.33$ which is consistent with the literature values. Our work suggests 1-3 complex $\text{La}(\text{Oxa})_3^{3-}$ existence. Once again, the complexes electrophoretic mobilities were obtained simultaneously.

Acknowledgements

The authors are grateful to Dr. A. Varenne, Dr. S. Descroix, Dr. F. d'Orlyé and Mr. M. Tabarant for their helpful advices.

IV.3. Détermination de mobilités électrophorétiques absolues

En marge du travail d'évaluation des constantes de complexation d'un système labile métal-ligand, les expérimentations de cette thèse ont conduit à la détermination de mobilités électrophorétiques de complexes métalliques. La démarche a été expliquée ci-dessus, puisque la détermination des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques est simultanée et procède de l'ajustement des données expérimentales au même modèle mathématique.

Ces mobilités électrophorétiques sont donc évaluées dans un milieu bien défini (l'électrolyte). Or, elles dépendent de la nature de l'électrolyte, ainsi que de sa force ionique. Les ions du milieu environnant ont effectivement un impact non négligeable sur le comportement des ions en solution. Le paragraphe suivant va permettre d'effectuer des corrections de force ionique, nécessaires pour le calcul de mobilités électrophorétiques absolues.

IV.3.1. Théorie des électrolytes

IV.3.1.1. Conductivité équivalente

La conductivité d'un électrolyte symétrique X^+Y^- est définie par sa conductivité équivalente Λ [152] :

$$\Lambda = \frac{10^3 \lambda_c}{zC} \quad (\text{Eq. 113})$$

où λ_c est la conductivité spécifique en $\text{cm}^{-1}.\Omega^{-1}$, $z = z_{X^+} = z_{Y^-}$ la charge ionique de l'électrolyte symétrique et C la concentration de l'électrolyte en mol.L^{-1} .

La conductivité équivalente est liée aux conductivités équivalentes individuelles de X^+ et Y^- , et donc aux mobilités électrophorétiques des ions de l'électrolyte [72] :

$$\Lambda = \lambda_{X^+} + \lambda_{Y^-} = F(\mu_{X^+} + \mu_{Y^-}) \quad (\text{Eq. 114})$$

IV.3.1.2. Loi restreinte de Debye-Hückel

Cette loi permettant d'évaluer les coefficients d'activité en solution, n'a pas été présentée au chapitre IV.1, pour le fait que son domaine d'application est restreint aux milieux très dilués ($I < 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) donc très rarement applicable aux données expérimentales.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Elle est établie en prenant en compte un certain nombre d'hypothèses, simplifiant les interactions entre les ions de la solution : l'ion est le système de référence ; seules les forces coulombiennes sont prises en compte ; les ions entourant l'ion de référence possèdent une charge égale mais de signe opposé, ils sont unis en un continuum chargé (le nuage ionique) d'épaisseur κ^{-1} :

$$\kappa^{-1} = \sqrt{\frac{1000\epsilon kT}{8\pi N_A e^2 I}} \quad (\text{Eq. 115})$$

où κ^{-1} est en cm, ϵ est la constante diélectrique du milieu en F.m⁻¹, k la constante de Boltzmann (1,38.10⁻²³ J.K⁻¹), la température en kelvin, N_A le nombre d'Avogadro (6,02.10²³ mol⁻¹), e la charge élémentaire (1,60.10⁻¹⁹ C) et I la force ionique de la solution.

En l'absence de champ électrique appliqué à la solution, le nuage ionique est distribué symétriquement autour de l'ion de référence, considéré comme ponctuel. La loi restreinte de Debye-Hückel s'écrit alors :

$$\log \gamma = + \frac{1}{2,303} \frac{N_A z_{X+} z_{Y-} e^2}{2\epsilon RT} \kappa \quad (\text{Eq. 116})$$

où γ est le coefficient d'activité moyen et R la constante des gaz parfaits (8,31 J.mol⁻¹.K⁻¹).

L'équation (116) appliquée aux solutions aqueuses à 25°C donne [18]:

$$\log \gamma \approx 0,5115 z_{X+} z_{Y-} \sqrt{I} \quad (\text{Eq. 117})$$

IV.3.1.3. Equation d'Onsager

Dans les mêmes hypothèses que la loi restreinte de Debye-Hückel, Onsager a proposé une équation pour calculer les conductivités équivalentes à dilution infinie. Les effets du nuage ionique sur l'ion de référence en mouvement sont plus difficiles à estimer car les ions constitutifs du nuage doivent migrer pour préserver la symétrie du nuage électronique. En conséquence, le nuage électronique prend la forme d'une traine derrière l'ion de référence, ce qui a tendance à le freiner.

L'équation d'Onsager s'écrit :

$$|\lambda_i| = |\lambda_i^0| \left(1 - \frac{e^2 \omega \kappa}{6\epsilon kT} \right) - \frac{|z_i| e F \kappa}{1800 \pi \eta} \quad (\text{Eq. 118})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

où λ_i est la conductivité équivalente de l'ion i à la force ionique I , λ_i° la conductivité équivalente à dilution infinie, z_i la charge de l'ion i considéré, η la viscosité dynamique de la solution en Pa.s et ω un paramètre lié à l'électrolyte défini comme suit :

$$\omega = \frac{|z_{X+} z_{Y-}|}{1 + \sqrt{q}} \quad (\text{Eq. 119})$$

$$\text{avec : } q = \frac{|z_{X+} z_{Y-}| (\lambda_{X+}^\circ + \lambda_{Y-}^\circ)}{(|z_{X+}| + |z_{Y-}|)(|z_{X+}| \lambda_{X+}^\circ + |z_{Y-}| \lambda_{Y-}^\circ)} \quad (\text{Eq. 120})$$

Pour un électrolyte symétrique, $|z_{X+}| = |z_{Y-}| = 1$, donc $q = 0,5$.

L'équation d'Onsager devient donc, à 25°C [18] :

$$|\lambda_i| = |\lambda_i^\circ| - (30,28 \cdot |z_i| + 0,23 \cdot \lambda_i^\circ) \sqrt{I} \quad (\text{Eq. 121})$$

D'après l'équation (114),

$$|\mu_i| = |\mu_i^\circ| - (31,4 \cdot 10^{-5} \cdot |z_i| + 0,23 \cdot \mu_i^\circ) \sqrt{I} \quad (\text{Eq. 122})$$

Cette équation ne peut être utilisée que pour des ions de petite taille dans des milieux très dilués, $I < 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, car le nuage ionique doit être plus grand que l'ion de référence [152]. Une extension de cette équation a donc été réalisée par Pitt pour pouvoir effectuer des corrections de force ionique pour des forces ioniques plus importantes.

IV.3.1.4. Loi étendue de Debye-Hückel / Equation de Davies

Pour des forces ioniques supérieures à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, l'équation (115) montre que la taille du nuage ionique diminue, si bien que l'hypothèse de l'ion de référence ponctuel n'est plus valable.

L'équation (116) (loi de Debye-Hückel restreinte) est donc étendue de la manière suivante :

$$\log \gamma = + \frac{1}{2,303} \frac{N_A z_{X+} z_{Y-} e^2}{2 \varepsilon R T} \kappa \frac{1}{1 + \kappa} \quad (\text{Eq. 123})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

On en déduit la version numérique [18] :

$$\log \gamma \approx -0,5115 |z_X + z_Y| \frac{\sqrt{I}}{1 + Br_i \sqrt{I}} \quad (\text{Eq. 124})$$

où B et r_i ont été définis dans le paragraphe IV.1. Leur produit est pris égal à 1,5 selon la recommandation de l'OCDE [57].

IV.3.1.5. Equation de Pitt

Pour un électrolyte XY, et après application numérique à 25 °C, l'équation de Pitt se résume à [152]:

$$|\lambda_i| = |\lambda_i^\circ| - \left(30,28 \cdot z_i^2 + 0,23 \cdot \lambda_i^\circ \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + 1,5\sqrt{I}} \quad (\text{Eq. 125})$$

Cette expression se combine avec l'équation (114) pour obtenir :

$$|\mu_i| = |\mu_i^\circ| - \left(31,4 \cdot 10^{-5} \cdot z_i^2 + 0,23 \cdot \mu_i^\circ \right) \frac{\sqrt{I}}{1 + 1,5\sqrt{I}} \quad (\text{Eq. 126})$$

L'équation de Pitt est considérée fournir une estimation correcte des conductivités équivalentes pour des électrolytes de force ionique jusqu'à quelques dixièmes de mol.L⁻¹.

IV.3.2. Détermination des mobilités électrophorétiques absolues des acides organiques d'intérêt

Ce paragraphe a pour objet la détermination des mobilités électrophorétiques absolues des acides organiques hydrophiles étudiés au cours de cette thèse.

Plusieurs protocoles [153-158] sont disponibles pour la séparation des acides organiques hydrophiles par EC. Généralement, ils mettent en œuvre un surfactant cationique qui permet d'inverser le sens du flux électroosmotique et ainsi analyser d'abord les anions puis les neutres et enfin les cations, en inversant aussi la tension de séparation.

Nous avons choisi d'utiliser le protocole de Wu et al. [153]. L'électrolyte est composé d'acide trimellitique à 5 mmol.L⁻¹ et de bromure de tetraammonium à 1 mmol.L⁻¹, dont le pH est ajusté soit à 5,5 avec de l'HCl, soit à 9 avec NaOH dans la

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

publication ; comme nous cherchions seulement à analyser les acides organiques (leur séparation étant superflue), nous avons choisi de fixer le pH à 7 pour que la majorité des acides organiques soient totalement ionisés. L'acide trimellitique est choisi pour sa mobilité électrophorétique proche de celle des acides organiques, ce qui permet d'obtenir des pics électrophorétiques symétriques. La force ionique de l'électrolyte est donc égale à 10 mmol.L⁻¹ environ.

La tension de séparation vaut -20 kV, avec un capillaire de dimensions 75 µm x 70 cm. Les échantillons, analysés 2 fois, contiennent chacun un acide organique à 0,1 mol.L⁻¹ et 1% en volume de diméthylsulfoxyde. La détection est réalisée à 214 nm.

Le tableau suivant (tableau 18) rassemble les résultats obtenus. Les mobilités électrophorétiques sont calculées à partir des mobilités apparente et électroosmotique, elles-mêmes calculées à partir des temps de migration apparent et électroosmotique, comme décrit dans le chapitre II.4.4.

ion	t _M (min)	t _{eo} (min)	μ _{ep} (10 ⁻⁴ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	μ _{ep} moyenne (10 ⁻⁴ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)
oxalate	4,09	12,27	-5,70	-5,72
	4,09	12,44	-5,73	
citrate	4,46	12,47	-5,05	-5,05
	4,47	12,58	-5,04	
tartrate	4,69	12,67	-4,71	-4,71
	4,69	12,70	-4,71	
lactate	6,13	12,82	-2,98	-2,98
	6,13	12,82	-2,98	
formate	4,74	12,88	-4,67	-4,69
	4,69	12,67	-4,71	
acétate	5,64	12,83	-3,48	-3,48
	5,64	12,85	-3,48	
ascorbate	4,75	12,78	-4,63	-4,62
	4,77	12,80	-4,61	
succinate	6,91	12,93	-2,36	-2,37
	6,89	12,93	-2,37	

Tableau 18 : Mobilités électrophorétiques moyennes des acides organiques
dans les conditions analytiques de [153].

Ces valeurs à la force ionique de 10 mmol.L⁻¹ peuvent être converties en mobilités électrophorétiques à dilution infinie par l'équation de Pitt (équation 126) remaniée :

$$|\mu_i^0| = \frac{|\mu_i|(1 + 1,5\sqrt{I}) + 31,4 \cdot 10^{-5} z_i^2 \sqrt{I}}{1 + 1,27\sqrt{I}} \quad (\text{Eq. 127})$$

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

ion	oxalate	citrate	tartrate	lactate	formate	acétate	ascorbate	succinate
μ_i ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	-5,72	-5,05	-4,71	-2,98	-4,69	-3,48	-4,62	-2,37
μ_i° ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	-5,94	-5,40	-4,91	-3,07	-4,81	-3,58	-4,90	-2,53

Tableau 19 : Mobilités électrophorétiques des acides organiques étudiés
à force ionique $0,01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ μ_i et à dilution infinie μ_i° .

Le tableau 19 montre que les valeurs trouvées pour les mobilités électrophorétiques sont cohérentes, excepté pour les ions citrate et succinate. En effet, les ions monochargés provenant des acides monocarboxyliques (formate, acétate, ascorbate et lactate) ont des mobilités électrophorétiques plus faibles que les ions dichargés provenant des acides dicarboxyliques (oxalate, tartrate). Les valeurs de mobilités trouvées pour les ions citrate et succinate sont trop faibles, ce qui indique que les ions ne sont pas totalement ionisés au pH de travail. En effet, leur dernier pK_A est proche du pH de travail, ce qui explique la présence de formes protonées une fois. Les valeurs trouvées pour les ions citrate et succinate ne sont pas fiables.

IV.3.3. Détermination des mobilités électrophorétiques absolues des complexes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate

Les mobilités électrophorétiques ont été déterminées au chapitre IV.2.4 par régression non linéaire des données expérimentales acquises par couplage EC-ICPMS à la force ionique de $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. L'équation 127 permet de convertir les μ_i déterminés précédemment en μ_i° , les résultats obtenus sont reportés dans les tableaux 20 et 21.

ion	UO_2^{2+}	UO_2Oxal	$\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$	$\text{UO}_2(\text{Oxal})_3^{4-}$
μ_i ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	3,81 $\pm 1,6 \%$	0	-0,9 $\pm 25 \%$	-3,4 $\pm 25 \%$
μ_i° ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	4,29 $\pm 1,6 \%$	0	-1,0 ₃ $\pm 25 \%$	-3,9 ₁ $\pm 25 \%$

Tableau 20 : Mobilités électrophorétiques des complexes uranyle-oxalate
à force ionique $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ μ_i et à dilution infinie μ_i° , ainsi que leurs incertitudes associées.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

ion	La ³⁺	LaOxal ⁺	La(Oxal) ₂ ⁻	La(Oxal) ₃ ³⁻
μ_i (10 ⁻⁴ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	4,44 ± 4%	1,8 ± 25 %	-1,1 ± 25 %	-3,1 ± 25 %
μ_i° (10 ⁻⁴ cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	5,30 ± 4 %	1,9 ₆ ± 25 %	-1,1 ₅ ± 25 %	-3,4 ₁ ± 25 %

Tableau 21 : Mobilités électrophorétiques des complexes lanthane-oxalate
à force ionique 0,1 mol.L⁻¹ μ_i et à dilution infinie μ_i° , ainsi que leurs incertitudes associées.

IV.3.4. Estimation des mobilités électrophorétiques de complexes métalliques par une méthode basée sur l'équation de la conductivité équivalente d'Anderko et Lencka [144]

Les mobilités électrophorétiques des espèces complexées peuvent être estimées à partir des mobilités électrophorétiques du métal libre et du ligand libre ou même à partir de la mobilité d'un complexe d'ordre inférieur et de la mobilité du ligand libre.

Cette estimation nécessite de faire les deux hypothèses suivantes : d'une part, les ions sont supposés sphériques, tout au moins leur sphère d'hydratation, et d'autre part, les sphères d'hydratation des deux ions complexés ne s'interpénètrent pas. Ceci permet d'écrire, sur la base de considérations sur le rayon ionique et la charge, une équation reliant la conductivité équivalente de l'ion complexé à celles du métal et du ligand libres [144]. Celle-ci peut être exprimée en termes de mobilités électrophorétiques en utilisant le fait que la conductivité est le produit de la mobilité et de la constante de Faraday F :

$$\mu_{ML} = \frac{|z_{ML}|}{\left[\left(\frac{z_M}{\mu_M} \right)^3 + \left(\frac{z_L}{\mu_L} \right)^3 \right]^{1/3}} \quad (\text{Eq. 128})$$

où z_{ML} , z_M et z_L désignent respectivement la charge du complexe, du métal libre et du ligand libre.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Par récurrence, on peut généraliser l'équation 128 aux complexes d'ordre supérieur :

$$\mu_{ML_j} = \frac{|z_{ML_j}|}{\left[\left(\frac{z_M}{\mu_M} \right)^3 + j \cdot \left(\frac{z_L}{\mu_L} \right)^3 \right]^{1/3}} \quad (\text{Eq. 129})$$

Cette estimation est valable dans un large domaine de force ionique, donc en particulier à dilution infinie :

$$\mu_{ML_j}^{\circ} = \frac{|z_{ML_j}|}{\left[\left(\frac{z_M}{\mu_M^{\circ}} \right)^3 + j \cdot \left(\frac{z_L}{\mu_L^{\circ}} \right)^3 \right]^{1/3}} \quad (\text{Eq. 130})$$

L'incertitude associée à cette estimation est de $\pm 25\%$. Dans le cadre de cette thèse, les résultats obtenus précédemment par couplage EC-ICPMS ont été comparés aux estimations réalisées avec l'équation 130.

IV.3.4.1. Système lanthane-oxalate

Les calculs sont réalisés en employant l'équation 130 et les valeurs de mobilité de La^{3+} et Oxal^{2-} déterminées précédemment.

ion	La^{3+}	LaOxal^+	La(Oxal)_2^-	La(Oxal)_3^{3-}
μ_i° par EC-ICPMS ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	5,30 $\pm 4 \%$	2,0 $\pm 25 \%$	-1,2 $\pm 25 \%$	-3,4 $\pm 25 \%$
μ_i° par (Eq. 60) ($10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	/	$1,7 \pm 25 \%$ i.e. [1,5 ; 1,9]	$-1,6 \pm 25 \%$ i.e. [-1,8 ; -1,4]	$-4,5 \pm 25 \%$ i.e. [-5,1 ; -3,9]

Tableau 22: Mobilités électrophorétiques des complexes lanthane-oxalate à dilution infinie μ_i° ; comparaison entre les résultats obtenus par couplage EC-ICPMS et les estimations basées sur l'équation 130.

Le tableau 22 montre une bonne adéquation entre les estimations basées sur la publication d'Anderko et Lencka et les valeurs mesurées expérimentalement pour le système lanthane-oxalate. L'écart entre valeurs théoriques et expérimentales croît

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

avec l'ordre du complexe. L'équation 130 est donc utile pour obtenir une bonne approximation de la valeur des mobilités des complexes métalliques, mais ne peut pas remplacer la détermination expérimentale.

IV.3.4.2. Système uranyle-oxalate

Dans ce paragraphe, on emploie les valeurs de mobilité des ions UO_2^{2+} et Oxal^{2-} déterminées précédemment pour réaliser les estimations à partir de l'équation 130.

ion	UO_2^{2+}	UO_2Oxal	$\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$	$\text{UO}_2(\text{Oxal})_3^{4-}$
μ_i° par EC- ICPMS (10^{-4} $\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	4,29 $\pm 1,6 \%$	0	-1,0 $\pm 25 \%$	-3,9 $\pm 25 \%$
μ_i° par (Eq. 60) (10^{-4} $\text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)	/	/	-3,5 $\pm 25 \%$ i.e. [-4,0 ; -3,1]	-4,5 $\pm 25 \%$ i.e. [-7,5 ; -5,8]

Tableau 23: Mobilités électrophorétiques des complexes uranyle-oxalate à dilution infinie μ_i° ;
comparaison entre les résultats obtenus par couplage EC-ICPMS
et les estimations basées sur l'équation 130.

Le tableau 23 indique que l'estimation basée sur l'équation d'Anderko et Lencka est mise en défaut sur le système uranyle-oxalate. En effet, les valeurs de mobilités électrophorétiques des complexes $\text{UO}_2(\text{Oxal})_2^{2-}$ et $\text{UO}_2(\text{Oxal})_3^{4-}$ déterminées par EC-ICPMS sont bien plus faibles que les valeurs issues de l'estimation de l'équation 130.

Ceci peut s'expliquer par le fait que les hypothèses d'Anderko et Lencka ne sont pas valables dans le cas du système uranyle-oxalate. En effet, l'ion UO_2^{2+} est de forme rectiligne, donc absolument pas sphérique, quoique l'ion uranyle hydraté soit à peu près de forme sphérique. D'autre part, la mobilité nulle du complexe neutre UO_2Oxal empêche la propagation par récurrence de l'équation 128, ce qui peut expliquer les écarts obtenus pour les complexes d'ordre supérieur. Finalement, les valeurs de mobilité trouvées expérimentalement semblent faibles, au vu de la charge des complexes considérées. Il est probable qu'au pH analytique de 3,5, les espèces complexées observées soient protonées et dans ce cas la charge réelle des complexes est différente de celle qui a été prise en compte dans l'estimation de l'équation 130.

IV.4. Bilan : apports de l'EC-ICPMS à l'étude de spéciation de l'uranium

L'originalité de ce travail de thèse réside d'abord dans l'amélioration de la méthode d'électrophorèse capillaire d'affinité : une plus grande liberté est permise pour le choix du système d'étude puisque les analyses sont réalisées à pH et force ionique fixes. L'interprétation des résultats expérimentaux en est facilitée par rapport à l'étude des complexes carbonates de radionucléides (par exemple), qui nécessite de faire varier le pH analytique [106].

Ce travail met en outre l'accent sur le choix des conditions analytiques, qui repose sur la chimie des métaux et ligands considérés : ceux-ci ne doivent pas se dégrader en cours d'analyse (un choix rigoureux du pH et de l' E_h doivent être opérés), et les complexations parasites doivent être soigneusement évitées.

Il permet de comparer les différentes méthodes de traitement mathématique des résultats expérimentaux, pondérées ou non, linéaires ou non, et établit les formules permettant de calculer de manière précise les écarts-types associés aux constantes de complexation.

Une attention particulière est portée à la correction des constantes de complexation apparentes obtenues, la force ionique mais aussi l'ionisation du ligand ont été prises en compte dans les calculs. Ce travail élargit la méthode d'électrophorèse capillaire d'affinité à la complexation multiple (plusieurs molécules de ligand pour un seul ion métallique). Finalement, ce travail, appliqué à des systèmes encore peu caractérisés, dont les constantes de complexation sont peu fiables ou alors déterminées par d'autres méthodes analytiques, apporte des précisions sur la stœchiométrie limite des complexes d'un système ainsi que sur les valeurs et incertitudes des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques en conditions thermodynamiques standard.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

IV.4.1. Conclusions intermédiaires de l'étude menée par EC-ICPMS

Cette étude présente de manière détaillée la démarche suivie pour l'acquisition de données thermodynamiques de complexation de systèmes labiles. Les conditions analytiques relatives à l'électrolyte ont été définies afin de permettre d'observer correctement le phénomène de complexation du métal :

- le pH est soigneusement fixé par un tampon de manière à limiter l'hydrolyse du métal ou sa complexation par les carbonates issus du dioxyde de carbone atmosphérique.
- la force ionique doit être fixée par l'ajout d'un sel de fond non complexant : sa valeur doit être suffisamment élevée pour que la complexation du métal ne modifie pas la force ionique de la solution. On choisit de travailler avec des solutions de force ionique minimales, afin de simplifier les équations de correction de force ionique ;
- le ligand est directement ajouté à l'électrolyte afin de préserver l'équilibre de complexation au cours de l'analyse.

Ensuite, la théorie des équilibres de complexation et de l'EC ont été combinées pour obtenir l'isotherme de complexation, permettant de calculer les constantes de complexation. Une version simplifiée de cette équation (limitée au domaine d'étude du complexe de stœchiométrie 1-1) a aussi été formulée. L'emploi de régressions linéaires ou non-linéaires, pondérées par l'écart-type expérimental ou non, a été discuté selon le type d'étude :

- Dans le cas de la détermination de la constante d'équilibre du complexe 1-1 (premier article), l'emploi de régressions linéaires s'avère suffisant [140], pour peu que celles-ci soient pondérées [141]. Les différentes méthodes ont été comparées entre elles en ce qui concerne la précision et la fiabilité de la constante de complexation déterminée : les méthodes « réciproques » sont meilleures que la méthode standard désignée sous le nom de « Mobility ratio difference method » dans la première publication. La mobilité électrophorétique du complexe 1-1 est déterminée simultanément. Les incertitudes présentées dans le tableau 8 ont été calculées en propageant les écarts-types de la pente et de l'ordonnée à l'origine obtenus par les différentes régressions linéaires.
- L'étude de l'ensemble du système métal-ligand est accomplie en ajustant régression non-linéaire (l'isotherme de complexation n'ayant plus une forme linéaire) pondérée aux données expérimentales. Cette méthode a été appliquée aux systèmes uranyle-oxalate et lanthane-oxalate dans le second article pour

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

calculer la constante de complexation de chaque complexe ainsi que leur mobilité électrophorétique dans les conditions de l'analyse. Les incertitudes relatives aux constantes de complexation ont été estimées en considérant leur variation quand une erreur de $\pm 25\%$ est appliquée aux mobilités électrophorétiques. Ce type de modélisation permet de préciser la stoechiométrie du complexe, ainsi qu'il est décrit dans la deuxième publication.

Les valeurs des constantes de complexation déterminées par ces différentes méthodes sont valables dans les conditions de l'analyse, c'est-à-dire à pH et force ionique fixés. Afin de pouvoir comparer ces résultats aux valeurs trouvées dans la littérature, il convient de recalculer les données dans l'état thermodynamique de référence, c'est-à-dire l'état de dilution infinie (i.e. force ionique nulle) à 25°C. Il est donc nécessaire de prendre en compte deux termes correctifs, l'un pour le pH, l'autre pour la force ionique. Le pH a pour effet de modifier l'état d'ionisation des composés étudiés, et en particulier, aux pH acides, le ligand peut comporter une proportion non négligeable d'espèces protonées. Ceci est pris en compte dans le calcul de la constante de complexation en exprimant, dans la loi d'action de masse, la concentration en ligand libre en fonction de la concentration totale du ligand, du pH et des pK_A du ligand (cf la relation de Henderson-Hasselbach). La force ionique, quant à elle, augmente la polarité de la solution aqueuse et a donc tendance à favoriser légèrement la dissociation des complexes formés (les constantes de complexation diminuent avec la force ionique). Les interactions électrostatiques avec les ions du solvant sont très bien prises en compte dans les modélisations de Debye-Hückel, Davies, la SIT et Pitzer, valables pour différentes gammes de force ionique. Dans le cas de notre étude, les électrolytes sont de force ionique inférieure à 0,1 mol.L⁻¹, ce qui justifie l'emploi de l'équation de Davies.

Les mobilités électrophorétiques sont elles aussi dépendantes de la force ionique du milieu, et il existe, de même, différents modèles de correction de la force ionique, dont l'équation de Pitt, qui s'applique dans les conditions analytiques de notre étude.

Ceci nous a permis de calculer les valeurs à dilution infinie des constantes de complexation et des mobilités électrophorétiques des systèmes lanthane-oxalate et uranyle-oxalate. Les résultats obtenus ont été confrontés aux estimations basées sur la théorie de la conductivité équivalente d'Anderko et Lencka [144] avec plus ou moins de succès. En outre, une expérience supplémentaire a été menée pour déterminer les mobilités électrophorétiques (à dilution infinie) des petits acides organiques d'intérêt.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Cette étude a permis d'explorer les possibilités de l'EC-ICPMS en ce qui concerne la détermination de données thermodynamiques (constantes de complexation et mobilités électrophorétiques) de systèmes labiles par la méthode d'affinité. Elle ouvre aussi de nouvelles perspectives, qui demandent à être approfondies tant au niveau des possibilités analytiques (étude de ligands plus complexes, telles que les molécules d'origine naturelle : sidérophore, polypeptide, polysaccharide, ou développement d'une méthode fiable pour les complexes stables) que du traitement mathématique (comment tenir compte de l'hydrolyse ou de complexations supplémentaires non désirées ?). Ceci sera discuté dans la conclusion générale du mémoire de thèse.

IV.4.2. Diagrammes de spéciation de l'uranium en conditions naturelles

Dans cette partie, l'analyse d'un système naturel est présentée pour illustrer l'importance des données thermodynamiques dans la modélisation géochimique d'un système.

Un système naturel est complètement modélisé lorsque l'ensemble des paramètres intensifs et extensifs du système sont définis, ce qui signifie que les concentrations des différentes espèces (rédox, complexées, précipitées...) peuvent être complètement prédites par la théorie des équilibres en solution aqueuse. Dans le cas de la spéciation de l'uranium, la température, la force ionique, le pH, le potentiel rédox E_h et la concentration totale de l'uranium et de ses ligands déterminent les formes chimiques sous lesquelles l'uranium se trouve, ainsi que leur concentration en solution.

La pression est approximativement égale à 1 bar. La température est choisie égale à 25°C par convention (les constantes de complexation sont généralement données à cette température), or, les eaux naturelles ont plutôt une température autour de 10 - 15 °C. Toutefois, ce léger écart n'apporte pas de modification significative des constantes d'équilibre. La force ionique dans les eaux naturelles est généralement faible et est donc bien modélisée par un sel de fond de chlorure de sodium à 0,1 mol.L⁻¹. Les diagrammes étant construits pour illustrer le comportement de l'uranium de manière approchée, une plus grande précision n'est pas nécessaire.

Les constantes de complexation employées ici sont extraites des tableaux 27 et 28. Le jeu de données est identique à celui employé dans la thèse de Vannapha Phrommavanh [1]. Les mesures expérimentales représentées sur les diagrammes suivants ont été recueillies au cours de cette dernière thèse au niveau du piézomètre PZPK (eaux de surface).

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Afin de se faire une première idée de la complexité du comportement de l'uranium en solutions aqueuses, un diagramme de solubilité de l'uranium dans l'eau pure a été tracé (figure 48). Les diagrammes sont construits comme suit :

- les zones bleues correspondent à la prédominance d'espèces dissoutes (pas de précipitation),
- les zones jaunes aux zones de prédominance de l'espèce solide (sursaturation),
- les segments rouges correspondent à l'équilibre entre solide et espèce dissoute : on obtient leur équation en considérant que la constante de stabilité de l'espèce solide est exactement égale au produit de solubilité,
- les formes géométriques orange et bleues (tableau 24) correspondent à des mesures réalisées par Vannapha Phrommavanh au cours de sa thèse, au niveau du piézomètre PZPK du site du Bouchet.

La chimie de cette eau naturelle subissant une variabilité saisonnière, les concentrations en uranium dissout ainsi que les conditions rédox varient suivant l'été ou l'hiver. Les concentrations en ligands (carbonate ou oxalate) utilisées ici sont donc des valeurs moyennes, permettant de se faire une idée globale du comportement de l'uranium en leur présence (cf tableau 4).

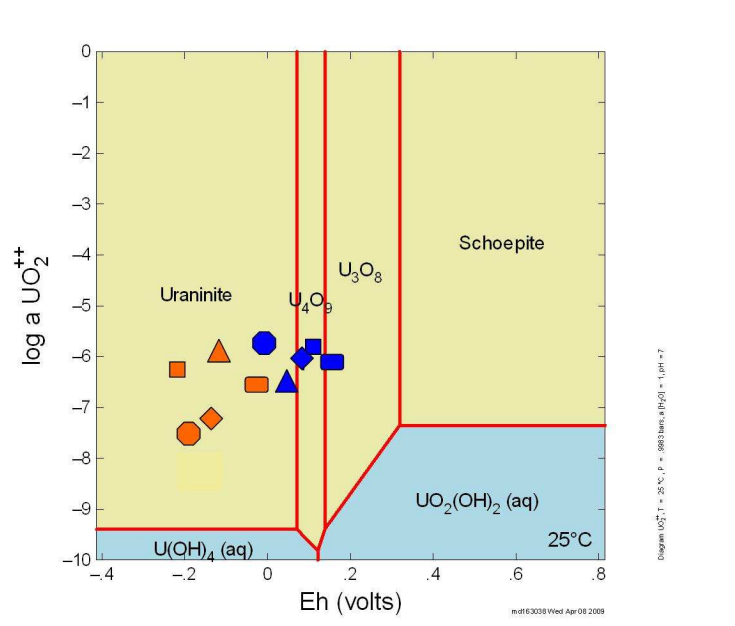


Figure 48 : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) dans l'eau pure à pH = 7 (l'ordonnée représente l'activité totale de l'uranium); la gamme choisie pour le potentiel rédox correspond au domaine de stabilité de l'eau.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS











Date	[U] _{tot} (mol.L ⁻¹)	E _h (mV/ENH)	pH	symbole	Date	[U] _{tot} (mol.L ⁻¹)	E _h (mV/ENH)	pH	symbole
10/02/04	1,4.10 ⁻⁶	100	6,4		21/04/04	6,6.10 ⁻⁷	-160	7,0	
28/01/03	1,8.10 ⁻⁶	88,5	6,7		30/07/02	7.10 ⁻⁸	-143	6,7	
12/03/06	8.10 ⁻⁷	143	6,8		25/05/04	2,5.10 ⁻⁷	0	6,8	
08/05/06	5.10 ⁻⁷	44	6,9		30/06/05	9,6.10 ⁻⁷	-104	6,8	
13/02/07	2,5.10 ⁻⁶	0	7,1		30/08/05	5,4.10 ⁻⁸	-195	6,7	

Tableau 24 : Mesures réalisées au piézomètre PZPK sur le site du Bouchet.

Le diagramme de solubilité de l'uranium de la figure 48 représente les zones de prédominance des différentes formes de l'uranium. Ainsi, on constate qu'à E_h bas (conditions réductrices), les espèces de l'U(IV) prédominent (uraninite ou U(OH)_{4(aq)}), tandis qu'à E_h élevé, on trouve principalement les espèces de l'U(VI) (schoepite et UO₂(OH)_{2(aq)}). A potentiel redox intermédiaire, on trouve des formes solides à un degré d'oxydation intermédiaire entre +IV et +VI (U₄O₉ et U₃O₈). La solubilité de l'uranium est meilleure pour l'U(VI) (≈ 10⁻⁷ mol.L⁻¹) que pour l'U(IV) (≈ 10⁻⁹ mol.L⁻¹).

De plus, les conditions choisies (eau pure) ne permettent pas de décrire la solubilité observée en conditions naturelles, ce qui est montré la complexation joue un rôle important dans la solubilité d'un élément. Nous verrons ensuite que la présence de complexants modifie considérablement le diagramme de solubilité.

Le comportement redox de l'uranium peut également être représenté par un autre diagramme, dit de Pourbaix ou E_h-pH, pour lequel la concentration totale en uranium est fixée. Dans la figure 49, elle a été fixée à 10⁻⁶ mol.L⁻¹.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

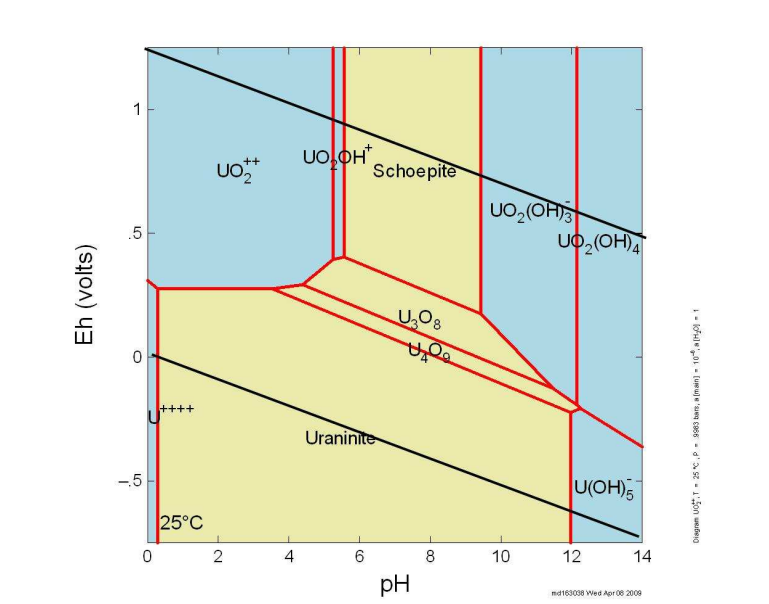


Figure 49 : Diagramme de Pourbaix de l'uranium à une concentration totale de $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ dans l'eau pure ;
les droites noires délimitent le domaine de stabilité de l'eau.

La figure 49 permet de constater que l'uranium a une meilleure solubilité aux pH extrêmes, ainsi qu'à E_h élevé (i.e. l'uranium à l'état d'oxydation +VI, ce qui est cohérent avec la figure 48).

Comme il a été décrit dans la synthèse de la biogéochimie de l'uranium (chapitre I.), les carbonates jouent un rôle très important dans la complexation de l'uranium en milieu naturel. Ceci est très bien illustré par le diagramme suivant (figure 50).

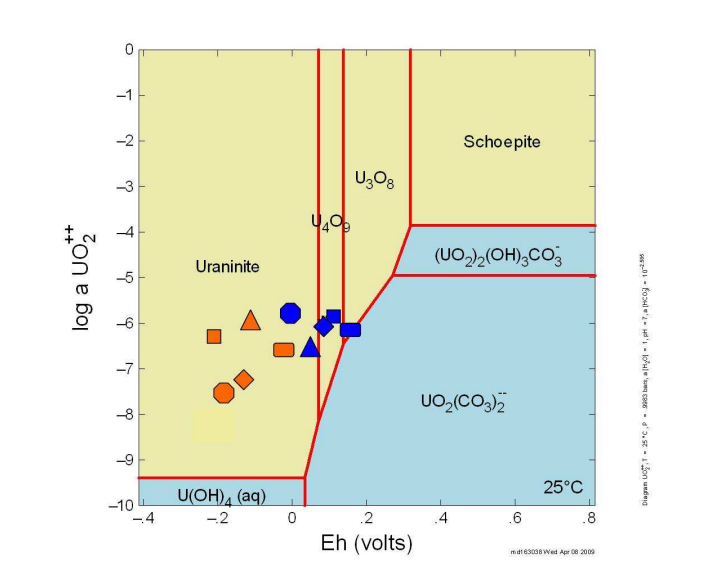


Figure 50 : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à $\text{pH} = 7$ en présence de carbonates à la concentration de $2,6.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$;
l'ordonnée représente l'activité totale de l'uranium ;
la gamme de potentiel rédox correspond au domaine de stabilité de l'eau.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

On constate que la présence de carbonates ne modifie quasiment pas le diagramme de solubilité pour les conditions réductrices (cf figures 48 et 50), alors que pour les conditions oxydantes, les complexes carbonates dominent la spéciation de l'uranium en solution (bien qu'à forte concentration en uranium, c'est toujours la schoepite qui précipite). Les carbonates augmentent la solubilité de l'uranium (VI) jusqu'à la valeur de 10^{-4} mol.L⁻¹, c'est-à-dire trois ordres de grandeur de plus que dans l'eau pure. Ceci est dû à la formation de complexes carbonates, qui stabilisent l'uranium en solution. La solubilité de l'uranium en conditions naturelles est mieux modélisée en prenant en compte les carbonates, mais leur présence n'explique pas complètement les valeurs mesurées en conditions réelles : un autre ligand doit vraisemblablement participer à la solubilisation de l'uranium. Or, les eaux de sol du site du Bouchet sont fortement chargées en oxalates, il convient donc de bâtir un nouveau diagramme tenant compte de la présence de ce ligand organique (figure 51).

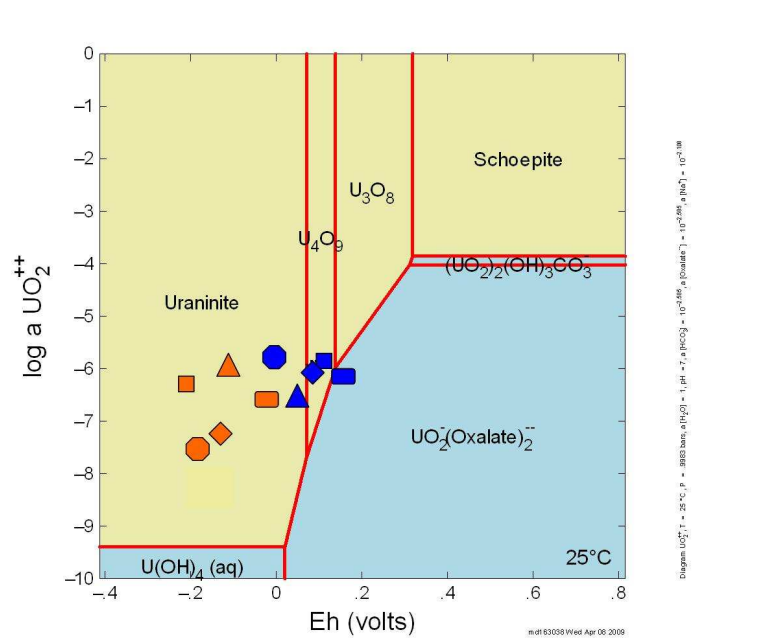


Figure 51 : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à pH = 7 en présence de $2,6 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ de carbonates et d'oxalates avec le jeu de données de complexation issues de BASSIST (l'ordonnée représente l'activité totale de l'uranium); la gamme de potentiel rédox correspond au domaine de stabilité de l'eau.

L'ajout d'oxalates aux espèces de notre système apporte deux modifications d'envergure : d'une part, en conditions oxydantes, le complexe uranyle-oxalate 1-2 prédomine la spéciation en solution, ne laissant qu'une étroite zone de prédominance aux complexes carbonates ; d'autre part, la solubilité se rapproche un peu plus des mesures réalisées en conditions réelles, en particulier en hiver (points bleus).

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

On remarque cependant que les oxalates, avec le jeu de données de complexation des tableaux 27 et 28 (correspondant à la base de données BASSIST, cf tableau 25 ci-dessous), ne permettent pas de décrire totalement le système réel. Le même type de diagramme (cf figure 52) a été établi en utilisant les valeurs déterminées au cours de la présente thèse pour les constantes de complexation du système uranyle-oxalate (cf tableau 25).

Système uranyle-oxalate	$\log \beta^{\circ}_1$	$\log \beta^{\circ}_2$	$\log \beta^{\circ}_3$
données BASSIST (thèse de Cyrille Alliot)	6,23	10,42	11,00
données déterminées dans cette thèse	6,93	11,92	15,11

Tableau 25 : Comparaison des constantes de complexation du système uranyle-oxalate issues de BASSIST et de cette thèse.

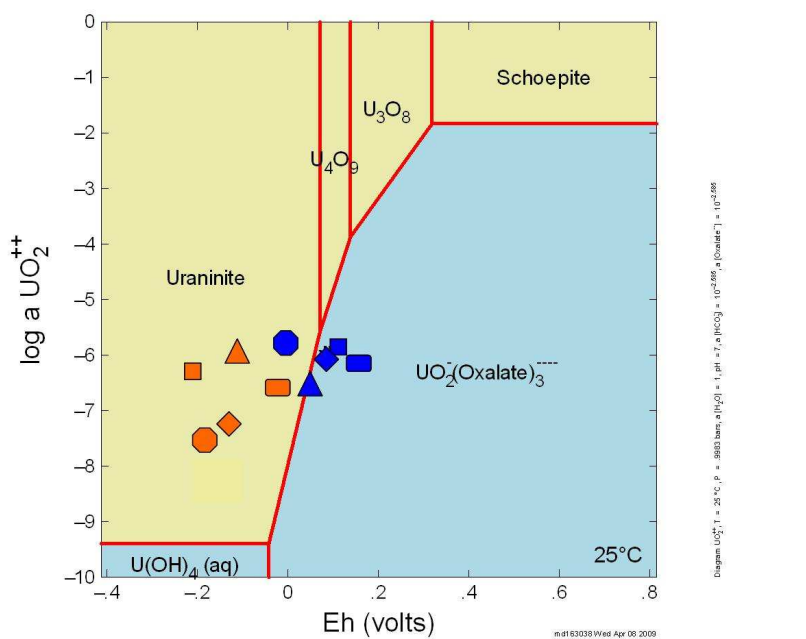


Figure 52 : Diagramme de solubilité de l'uranium (VI) à pH = 7 en présence de $2,6 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de carbonates et d'oxalates avec le jeu de données de complexation issues de cette thèse (cf tableau 25) ; l'ordonnée représente l'activité totale de l'uranium ; la gamme de potentiel rédox correspond au domaine de stabilité de l'eau.

IV. Mesure de constantes de complexation et de mobilités électrophorétiques par EC-ICPMS

Les valeurs de constantes de complexation apportées par la présente thèse permettent de mieux décrire le comportement de l'uranium dans les eaux naturelles du site du Bouchet. En effet, la figure 52 montre que les valeurs de solubilité mesurées dans les eaux naturelles en conditions hivernales sont proches de la limite calculée grâce au nouveau jeu de données, puisqu'elles se situent à la frontière entre les zones de précipitation de l'uraninite et de prédominance du complexe 1-3 $\text{UO}_2(\text{Oxa})_3^{4-}$. On remarque d'ailleurs que le complexe prédominant en conditions oxydantes (hiver) n'est plus le complexe 1-2 ($\text{UO}_2(\text{Oxa})_2^{2-}$, cf figure 51) mais le complexe 1-3, ce qui s'explique par une constante de complexation plus élevée qu'auparavant. Le fait que le complexe 1-3 soit plus stable (sa constante de complexation est plus élevée que dans la modélisation précédente) améliore encore de deux ordres de grandeur la solubilité de l'uranium à E_h élevé ($\approx 10^{-2} \text{ mol.L}^{-1}$). Toutefois, les données expérimentales correspondant aux conditions estivales sont mal modélisées par ce diagramme. Ceci provient vraisemblablement de l'incertitude sur les constantes de complexations du système U(IV)-oxalate utilisées dans cette modélisation. Leur détermination précise est un enjeu expérimental puisque l'U(IV) a tendance à précipiter rapidement (sa solubilité calculée est inférieure à $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$).

Ainsi, le nouveau jeu de données de complexation permet à la fois de mieux décrire les mesures de solubilité en conditions naturelles et d'apporter des précisions sur la spéciation de l'uranium (VI) et de nouvelles études devront être menées pour pouvoir disposer de données fiables en ce qui concerne la complexation de l'uranium (IV) avec le ligand oxalate. Une autre voie d'amélioration des résultats se situe dans l'intégration d'autres espèces chimiques, tel que le complexe ternaire $\text{Ca}_2\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3(\text{aq})$, ou l'interaction avec d'autres ligands naturels (sidérophores, substances humiques...).

V. Conclusion générale de la thèse / Perspectives

CONCLUSIONS GENERALES DE LA THESE / PERSPECTIVES

La finalité de ce travail de thèse a été de contribuer au développement de nouvelles méthodes analytiques d'étude de la spéciation de l'uranium, et en particulier de sa complexation avec les petites molécules d'origine naturelle.

La spéciation d'un élément représente sa répartition entre ses différentes formes chimiques. Elle contrôle l'ensemble des propriétés biogéochimiques de cet élément, telles que sa mobilité dans un milieu naturel ou sa toxicité. Ces dernières années, l'analyse de la spéciation dans des systèmes complexes (environnementaux, biologiques...) est devenue un enjeu majeur : les principales difficultés sont la stabilité des espèces étudiées hors équilibre, leur présence à des concentrations faibles (traces) et l'identification d'espèces inconnues. Ces problèmes sont généralement surmontés par l'emploi de techniques analytiques couplées associant la haute efficacité d'une technique séparative à la grande sensibilité des spectromètres de masse, telles que la LC-ICPMS ou l'EC-ICPMS. Le CEA est un acteur important de la recherche dans ce domaine : de nombreuses thèses y sont menées pour enrichir les modèles décrivant le comportement des radionucléides dans la géosphère grâce à l'acquisition de données thermodynamiques fiables et pour développer les techniques analytiques requises.

Une revue de la littérature concernant le comportement de l'uranium en contexte environnemental a fait apparaître les principaux processus biogéochimiques en jeu et leur importance relative. Même si la spéciation de l'uranium est principalement dominée par la complexation par les ions inorganiques, tels que les carbonates, les hydroxydes ou les phosphates, le choix du sujet d'étude de cette thèse s'est porté sur la complexation avec les petits acides organiques hydrophiles, qui peuvent jouer un rôle significatif dans certains milieux (tourbières...) et qui sont actuellement peu étudiés. Des diagrammes de spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples ont ensuite été établis, après compilation des constantes de complexation trouvées dans différentes bases de données. Ces diagrammes indiquent que l'ion oxalate a une affinité marquée pour l'uranium, et que les complexes uranyle-oxalate ont une grande importance dans les conditions chimiques d'une eau de sol naturelle.

L'étude de la spéciation de l'uranium en présence d'acides organiques simples par LC-ICPMS s'est divisée en trois étapes : d'abord, une étude préliminaire par spectrophotométrie UV/vis. a confirmé la présence des complexes étudiés dans les échantillons synthétiques utilisés ; ensuite, l'analyse par LC-ICPMS des acides organiques hydrophiles a été entreprise avec de nombreux couples phase

V. Conclusions générales / Perspectives

stationnaire / phase mobile, mais seules trois méthodes chromatographiques ont permis de séparer convenablement les principaux acides organiques ; et enfin, ces méthodes ont été appliquées sans succès à la séparation des complexes uranyle-acide organique. Cette série d'expériences a mis en évidence le caractère labile des complexes étudiés, et donc la nécessité de développer une méthode analytique adaptée.

La thèse s'est prolongée par l'étude de la complexation entre uranium et oxalate par le couplage EC-ICPMS. Le développement de la technique analytique a été effectué en se basant sur le système lanthane-oxalate (la chimie du lanthane étant plus simple à maîtriser). Les conditions analytiques (type de capillaire, composition de l'électrolyte et de l'échantillon) ont été grandement discutées, particulièrement afin de les adapter au cas de l'uranium. Cette méthode analytique a permis d'accéder aux constantes de complexations et aux mobilités électrophorétiques des systèmes lanthane-oxalate et uranium-oxalate, ce qui a donné lieu à l'écriture de deux publications. L'isotherme de complexation a été établie dans le cas d'un seul complexe ou pour l'ensemble du système. Les différentes méthodes de traitement mathématique des données expérimentales ont été comparées et ce sont les méthodes pondérées qui fournissent les résultats les plus fiables, avec les plus faibles valeurs d'incertitudes. Les corrections en force ionique et de la concentration du ligand ont été introduites et leur application aux systèmes lanthane-oxalate et uranium-oxalate ont mis en évidence un bon accord entre les constantes de complexation calculées et les valeurs de la littérature. Quant aux mobilités électrophorétiques obtenues pour les complexes lanthane-oxalate et uranyle-oxalate, elles ont aussi été recalculées à dilution infinie. Une expérience supplémentaire a permis la détermination des mobilités électrophorétiques des acides organiques d'intérêt. D'autre part, les bonnes pratiques de l'EC et les menues améliorations apportées au couplage EC-ICPMS sont présentées en annexe.

Le couplage EC-ICPMS constitue donc un outil supplémentaire d'étude de la spéciation des radionucléides. Les besoins de données de complexation de l'uranium et des autres radionucléides sont intrinsèquement liés à la demande croissante en modèles prédictifs de la migration des radionucléides dans l'environnement. Ce travail ouvre de nombreuses perspectives en ce qui concerne l'EC-ICPMS, en particulier les études de complexation et la détermination de mobilités électrophorétiques de métaux et de radionucléides. L'installation en zone à radioactivité contrôlée peut aussi être envisagée : cette méthode analytique permettrait de déterminer les propriétés d'éléments hautement radioactifs, en minimisant les risques pour les opérateurs (les quantités d'échantillons manipulées étant très faibles).

V. Conclusions générales / Perspectives

De nombreux systèmes labiles sont aujourd'hui encore assez peu connus (leurs données de complexation sont rares, peu fiables et/ou en désaccord) et la méthode développée au cours de cette thèse permettrait de préciser leurs caractéristiques : ce sont les complexes entre les divers radionucléides (lanthanides(III), thorium(IV), plutonium(VI), uranium(VI), neptunium(VI), américium(III), curium(III),...) et les acides organiques hydrophiles les plus représentatifs (oxalique, citrique, tartrique, formique, acétique, ascorbique, succinique, fumarique, malique, maléique...). On pourrait aussi envisager l'étude des complexes entre radionucléides et d'autres ligands naturels de petite taille, qui peuvent avoir un impact sur leur spéciation dans certaines conditions particulières : il s'agit des acides aminés, des monosaccharides, des acides gras... Ces espèces sont peu représentées dans les bases de données de complexation et leur prise en compte contribuerait à affiner les modèles biogéochimiques. En outre, l'EC-ICPMS permettrait de confirmer les constantes de complexation établies pour d'autres systèmes à tendance labile : les complexes entre les ligands de petite taille décrits ci-dessus et les métaux de transition essentiels ou toxiques tels que le cuivre, le zinc, le fer ou le cadmium, le plomb, l'arsenic.

La méthode analytique développée pour le couplage EC-ICPMS pourrait être adaptée au cas des complexes stables, en apportant un soin particulier à la préparation d'échantillon. En effet, les complexes stables sont des espèces à cinétique lente, ce qui signifie qu'ils ont tendance à se former à et se dissocier lentement hors des conditions d'équilibre chimique. Leur étude par EC-ICPMS semble aisée puisque les différentes formes chimiques ont des temps de vie bien supérieurs à la durée d'une analyse : on peut imaginer qu'une telle analyse conduirait à la détection de toutes les espèces chimiques d'un même élément sous la forme de plusieurs pics distincts, dont la taille est proportionnelle à la concentration en solution. Les études de complexation de ces systèmes seraient grandement facilitées par rapport aux systèmes labiles, sur lesquelles les études de cette thèse se sont focalisées. Le seul inconvénient réside dans la préparation d'échantillons contenant des complexes stables : des protocoles comportant une ou plusieurs étapes de chauffage et d'ultrasons devraient être mis en place.

Ce type d'étude pourrait rencontrer de nombreuses applications dans les domaines environnementaux, biologiques et nucléaires. En effet, ces dernières années ont mis à jour de nombreuses familles de molécules capables d'interagir fortement avec les métaux et les radionucléides. Il est principalement question des macromolécules d'origine biologiques telles que les substances humiques, les sidérophores comme la DFO, les métallothionéines, les polypeptides, les polysaccharides, les acides nucléiques, etc. Les ligands artificiels aminopolycarboxylates (EDTA, DTPA...) sont aussi d'une grande importance, notamment dans les procédés de décontamination. Ces différents types de ligands

V. Conclusions générales / Perspectives

forment généralement par chélation des complexes stables avec les éléments d'intérêt. La connaissance des interactions entre radionucléides et macromolécules permettrait de mieux comprendre la mobilité des radionucléides et de préciser ainsi leur devenir dans l'environnement. D'autre part, l'application de cette méthode aux systèmes stables pourrait permettre l'étude des éléments à cinétique lente, tels que le Cr(VI) ou l'Al(III).

Finale­ment, les données de complexation (constantes d'équilibre et mobilités électrophorétiques) déterminées par ces méthodes pourraient être confirmées par une autre méthode analytique telle que la Spectrofluorométrie Laser Résolue en Temps.

VI. Annexes

VI.1. Généralités sur l'uranium [16]

Cette partie a pour objectif de présenter les principales propriétés physico-chimiques de l'uranium.

L'élément uranium a été découvert en 1789 par Martin Heinrich Klaproth dans un minerai de pechblende (UO_2). Avant de connaître ses propriétés radioactives, on l'employait comme matériau haute densité ou comme pigment (jaune, orange ou vert) pour la fabrication de céramiques ou de verres. Aujourd'hui, ces applications sont réservées à l'uranium appauvri. L'uranium naturel ou enrichi en isotope radioactif ^{235}U est utilisé dans l'industrie nucléaire pour la production d'énergie électrique et dans le domaine militaire pour la production d'armes nucléaires.

VI.1.1. Propriétés physiques

L'uranium est un métal gris blanc malléable et ductile. C'est un élément dense ($d = 18,7$) et faiblement radioactif. Son point de fusion se trouve à 1130°C . C'est un élément très électropositif (électronégativité de Pauling : 1,7), et par conséquent, il est très réactif en présence d'oxygène. Réduit en fines particules, il est pyrophorique à température ambiante et donne lieu à la formation d'oxydes mixtes U, U_3O_8 et UO_2 .

VI.1.2. Propriétés nucléaires

Dans la classification périodique des éléments, l'uranium fait partie de la famille des actinides (thorium \rightarrow lawrencium). L'isotope principal a pour numéro atomique $Z = 92$ et pour nombre de masse $M = 238$. Dans l'état actuel des connaissances, 23 isotopes de l'uranium, tous radioactifs, ont été identifiés.

A l'état naturel, l'uranium est principalement constitué de trois isotopes, émetteurs alpha : ^{238}U (teneur en masse : 99,2836%), ^{235}U (0,7110%) et ^{234}U (0,0054%). La masse molaire moyenne de l'uranium naturel est ainsi de $238,03 \text{ g.mol}^{-1}$. Les isotopes 235 et 238 de l'uranium sont des radioéléments à vie longue ($0,9.10^9$ ans et $4,47.10^9$ ans respectivement), ce qui explique qu'actuellement ces isotopes soient encore présents sur Terre. Quant à l'uranium 234, il fait partie de la descendance radioactive du ^{238}U .

L' ^{235}U est le seul nucléide naturel fissile : il se désintègre spontanément ou suite à un bombardement neutronique. Les neutrons émis lors d'une réaction de fission induisent à leur tour de nouvelles fissions : c'est le phénomène de la réaction en chaîne. L' ^{238}U est quant à lui un isotope fertile : lorsqu'il capture un neutron, il

VI. Annexes

devient ^{239}U , instable, qui se transforme par désintégrations β^- en ^{239}Np puis en ^{239}Pu , radioélément fissile. Enfin, l' ^{234}U n'est ni fissile ni fertile.

VI.1.3. Propriétés chimiques

La configuration électronique de l'atome d'uranium à son état fondamental est la suivante : $[\text{Rn}] 5f^3 6d^1 7s^2$. Ainsi, les degrés d'oxydation de l'uranium s'échelonnent entre +III et +VI, sans oublier le degré zéro de l'uranium métal.

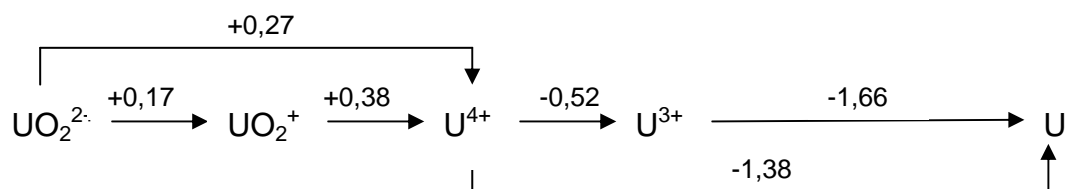
VI.1.3.1. Principaux composés de l'uranium

On extrait l'uranium de différents minerais naturels, telles que la pechblende UO_2 (variété collomorphe de l'uraninite), la schoepite $\text{UO}_2(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ou la carnotite $\text{K}_2(\text{UO}_2)_2(\text{VO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. Les principaux composés de l'uranium employés dans l'industrie nucléaire sont les oxydes U_3O_8 , UO_2 , $\text{UO}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, les (oxy)halogénures UF_6 , UO_2F_2 , UF_4 ou d'autres espèces chimiques comme le nitrure UN , l'hydrure UH_3 ou le diuranate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{U}_2\text{O}_7$.

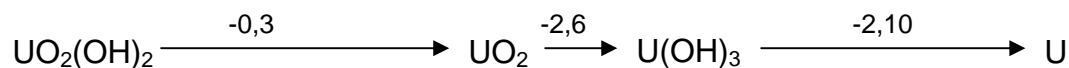
VI.1.3.2. Propriétés d'oxydoréduction

En solution aqueuse, les états d'oxydation principaux sont U(VI), sous la forme de l'ion uranyle $(\text{O}=\text{U}=\text{O})^{2+}$, et U(IV). Les autres formes de l'uranium sont instables du point de vue électrochimique, comme le suggère le diagramme de Latimer de l'uranium [159]. Les valeurs numériques indiquées dans ces diagrammes correspondent au potentiel rédox standard (en V_{ESH}) du couple concerné.

VI.1.3.2.1. EN MILIEU ACIDE ($\text{PH}=0$)

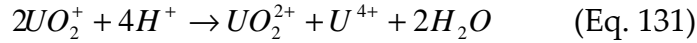


VI.1.3.2.2. EN MILIEU BASIQUE ($\text{PH}=14$)

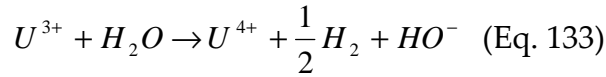
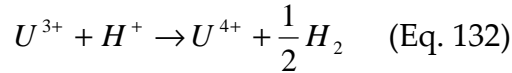


VI. Annexes

L'instabilité rédox de l'U(V) se traduit par la réaction de dismutation de UO_2^+ :

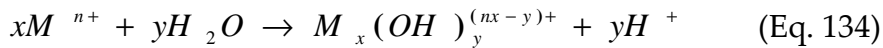


L'uranium à l'état d'oxydation +III est quant à lui instable en solution aqueuse, l'ion U^{3+} est oxydé par les ions $H^+_{(aq)}$ en milieu acide (Eq.132) et par l'eau dans des conditions plus basiques (Eq.133) suivant les réactions respectives :



VI.1.3.3. Hydrolyse des ions uranium [159]

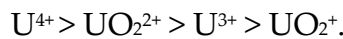
Le paragraphe précédent montre que les états d'oxydations les plus stables de l'uranium sont +VI (ion uranyle UO_2^{2+}) ou +IV en solution aqueuse. Ces cations sont soumis au phénomène d'hydrolyse. En effet, tous les cations métalliques ont une tendance plus ou moins marquée à l'hydrolyse et existent d'une certaine manière sous une forme hydratée. Plus la charge de l'ion est grande, plus l'interaction avec le solvant eau va être importante. La réaction d'hydrolyse de cations métalliques M^{n+} s'écrit ainsi :



avec une constante d'hydrolyse de la forme suivante :

$$\beta_{x,y}^* = [M_x(OH)_y^{(nx-y)+}] \cdot [H^+]^y \cdot [M^{n+}]^{-x} \quad (\text{Eq. 135})$$

L'hydrolyse d'un aquo-cation libère des ions H^+ , ce qui permet de considérer les aquo-cations comme des acides de Bronsted de force croissante avec la charge vue par les molécules d'eau, autrement dit avec le rapport charge/rayon de l'ion. De ce fait, la tendance à l'hydrolyse décroît sans doute selon la séquence (dans le cas de UO_2^{2+} , la charge effective est plutôt proche de + 3,3) :



Les principales constantes d'hydrolyse de l'U(IV) et de l'U(VI) sont rassemblées dans le tableau 26.

VI. Annexes

Espèce hydrolysée de l'U(IV)	$\log \beta^*_{x,y}$	Incertitude
$\text{U}(\text{OH})^{3+}$	-0,54	$\pm 0,06$
$\text{U}(\text{OH})_4$	-10	$\pm 1,4$
$\text{U}_6(\text{OH})_{15}^{9+}$	-16,9	$\pm 0,6$
Espèce hydrolysée de l'U(VI)	$\log \beta^*_{x,y}$	Incertitude
$\text{UO}_2(\text{OH})^+$	-5,3	$\pm 0,24$
$\text{UO}_2(\text{OH})_2$	-12,15	$\pm 0,07$
$\text{UO}_2(\text{OH})_3^-$	-20,3	$\pm 0,42$
$\text{UO}_2(\text{OH})_4^-$	-32,4	$\pm 0,68$
$(\text{UO}_2)_2(\text{OH})^{3+}$	-2,7	± 1
$(\text{UO}_2)_2(\text{OH})_2^{2+}$	-5,62	$\pm 0,04$
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_4^{2+}$	-11,9	$\pm 0,3$
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_5^+$	-15,6	$\pm 0,12$
$(\text{UO}_2)_3(\text{OH})_7^-$	-32	$\pm 0,8$
$(\text{UO}_2)_4(\text{OH})_7^-$	-22	± 1

Tableau 26 : Constantes d'hydrolyse de l'uranium aux états d'oxydation (+IV) et (+VI) [59,63].

L'hydrolyse de l'U(IV) débute pour une valeur de pH très basse ($\text{pH} < 1$) avec la formation du complexe $\text{U}(\text{OH})^{3+}$. La forme prédominante de l'uranium (IV) en solution est l'ion $\text{U}(\text{OH})_4$ pour les solutions modérément acides à basiques.

L'hydrolyse de l'U(VI) apparaît pour des valeurs de pH plus élevées (autour de pH 4.5 pour une concentration d'U(VI) de l'ordre de $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$). Il est intéressant de noter que des complexes hydroxydes polynucléaires se forment par hydrolyse des ions U^{4+} et UO_2^{2+} , et par conséquent, les grandes concentrations d'uranium favorisent l'apparition d'espèces hydrolysées.

VI.1.3.4. Principaux complexants des ions uranium [159]

L'hydrolyse, vue au paragraphe précédent, est un cas particulier de formation d'ions complexés. La charge positive élevée des cations U(VI) et U(IV), qui conduit à leur hydrolyse, est très importante pour l'interaction avec les ligands nucléophiles, dont la molécule d'eau est un exemple. D'autres ligands nucléophiles en solution peuvent remplacer les molécules d'eau dans la sphère d'hydratation de l'ion uranium, et ainsi former des complexes.

VI. Annexes

La stabilité des complexes formés dépend à la fois du type de groupes fonctionnels du ligand et de la densité de charge du cation vue par le ligand ; pour un ligand donné, la stabilité du complexe formé varie selon la séquence :



Il est à noter que peu de complexes de l'U(V) et de l'U(III) ont été identifiés suite à leur faible stabilité rédox. De par son caractère électropositif, l'uranium aura tendance à s'associer, par des interactions électrostatiques, aux atomes fortement électronégatifs comme le fluor ou l'oxygène plutôt qu'à l'azote, au phosphore ou au soufre. Le pouvoir complexant varie suivant la séquence $F^- > NO_3^- > Cl^- > ClO_4^-$ pour les anions simplement chargés et $CO_3^{2-} > C_2O_4^{2-} > SO_4^{2-}$ pour les anions doublement chargés. L'anion phosphate PO_4^{3-} et les phosphates organiques (tel que le tributylphosphate) sont de très bons complexants de l'uranium : ils agissent comme des ponts entre différents cations, ce qui forme des agrégats insolubles dans l'eau. Les ligands chélatants (EDTA, DTPA...) sont de puissants complexants de l'uranium, utilisés lors de la remédiation de sols pollués ou pour la décorporation de l'uranium.

A titre indicatif, certaines constantes de complexation de l'uranium IV et VI avec les principaux ligands inorganiques et organiques sont répertoriées dans les tableaux 27 et 28.

Espèce d'U(IV)	Constante de complexation	Incertitude	Référence
UCl^{3+}	$\log \beta_{1,1} = 1,7_2$	$\pm 0,13$	NEA [59]
USO_4^{2+}	$\log \beta_{1,1} = 6,5_8$	$\pm 0,19$	
$U(SO_4)_2(aq)$	$\log \beta_{1,2} = 10,5_1$	$\pm 0,2$	
UNO_3^{3+}	$\log \beta_{1,1} = 1,4_7$	$\pm 0,13$	
$U(NO_3)_2^{2+}$	$\log \beta_{1,2} = 2,3$	$\pm 0,35$	
$U(CO_3)_4^{4-}$	$\log \beta_{1,4} = 32,8$	$\pm 1,15$	
$U(CO_3)_5^{6-}$	$\log \beta_{1,5} = 34$	$\pm 0,9$	
$U(H_3PO_4)^{4+}$	$\log \beta_{1,1} = 2,4$	$\pm 0,3$	
$U(Cit)^+$	$\log \beta_{1,1} = 15,2$	n.d.	[160]
$U(Cit)_2^{2-}$	$\log \beta_{1,2} = 19,5$	n.d.	
$U(EDTA)_{(aq)}$	$\log \beta_{1,1} = 29,3$	n.d.	[161]
$U(DTPA)^-$	$\log \beta_{1,1} = 28,8$	n.d.	[162]

Tableau 27 : Constantes de complexation de l'uranium(IV)
avec les principaux ligands inorganiques et organiques ;
n.d . signifie que les incertitudes associées n'ont pas été précisées [63].

VI. Annexes

Espèce d'U(VI)	Constante de complexation	Incertitude	Référence
UO_2Cl^+	$\log \beta_{1,1} = 0,17$	$\pm 0,02$	thèse de Valérie Lourenço [16]
$\text{UO}_2\text{Cl}_{2(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,2} = -1,1$	$\pm 0,4$	
$\text{UO}_2\text{SO}_{4(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,1} = 3,15$	$\pm 0,02$	NEA [59]
$\text{UO}_2(\text{SO}_4)_2^{2-}$	$\log \beta_{1,2} = 4,14$	$\pm 0,07$	
UO_2NO_3^+	$\log \beta_{1,1} = 0,3$	$\pm 0,15$	
$\text{UO}_2\text{CO}_{3(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,1} = 9,94$	$\pm 0,03$	
$\text{UO}_2(\text{CO}_3)_2^{2-}$	$\log \beta_{1,2} = 16,61$	$\pm 0,09$	
$\text{UO}_2(\text{CO}_3)_3^{4-}$	$\log \beta_{1,3} = 21,84$	$\pm 0,04$	
$(\text{UO}_2)_3(\text{CO}_3)_6^{6-}$	$\log \beta_{3,6} = 54$	± 1	
$(\text{UO}_2)_{11}(\text{OH})_{12}(\text{CO}_3)_6^{2-}$	$\log \beta_{11,12,6}^* = -72,5$	± 2	
UO_2PO_4^-	$\log \beta_{1,1} = 13,23$	$\pm 0,15$	
$\text{UO}_2\text{HPO}_{4(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,1} = 7,24$	$\pm 0,26$	
$\text{UO}_2\text{H}_2\text{PO}_4^+$	$\log \beta_{1,1}^* = 1,12$	$\pm 0,06$	
$\text{UO}_2\text{H}_3\text{PO}_4^{2+}$	$\log \beta_{1,1} = 0,76$	$\pm 0,15$	
$\text{UO}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_{2(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,2}^* = 0,64$	$\pm 0,11$	
$\text{UO}_2(\text{H}_2,5\text{PO}_4)_2^+$	$\log \beta_{1,2}^* = 1,65$	$\pm 0,11$	thèse de Valérie Lourenço [16]
$\text{UO}_2(\text{HCOO})^+$	$\log \beta_{1,1} = 3,05$	n.d.	[163]
$\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})^+$	$\log \beta_{1,1} = 2,86$	$\pm 0,18$	thèse de Cyrille Alliot [15]
$\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_{2(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,2} = 5,57$	$\pm 0,2$	
$\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_3^{3-}$	$\log \beta_{1,3} = 7,25$	$\pm 0,2$	
$\text{UO}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_{(\text{aq})}$	$\log \beta_{1,1} = 6,23$	$\pm 0,1$	
$\text{UO}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_2^{2-}$	$\log \beta_{1,2} = 10,42$	$\pm 0,1$	
$\text{UO}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_3^{4-}$	$\log \beta_{1,3} = 11$	$\pm 0,02$	
$\text{UO}_2(\text{Lact})^+$	$\log \beta_{1,1} = 3,14$	n.d.	[65]
$\text{UO}_2(\text{Cit})^-$	$\log \beta_{1,1} = 8,69$	n.d.	[64]
$\text{UO}_2(\text{Cit})_2^{4-}$	$\log \beta_{1,2} = 19,51$	n.d.	
$\text{UO}_2(\text{EDTA})_2^{2-}$	$\log \beta_{1,1} = 13,6$	$\pm 4,3$	[164]
$\text{UO}_2(\text{DTPA})_3^{3-}$	$\log \beta_{1,1} = 21$	n.d.	[63]

Tableau 28 : Constantes de complexation de l'uranium(VI)
avec les principaux ligands inorganiques et organiques ;
n.d. signifie que les incertitudes associées n'ont pas été précisées. [63]

VI.2. Instrumentation

VI.2.1. ICPMS

L'appareil utilisé au cours de cette thèse (Finnigan Element 2, Thermo Fisher) est un spectromètre de masse à torche plasma à couplage inductif (ICPMS), équipé d'un secteur magnétique associé à un secteur électrique, destiné à la séparation d'ions à haute résolution.

VI.2.2. Chromatographie liquide

La chaîne chromatographique utilisée au cours de la thèse est constituée des éléments suivants : passeur d'échantillons Famos (LC Packings, Dionex), pompe chromatographique ICS-3000 (Dionex) et un détecteur UV/vis. Ultimate (LC Packings, Dionex). Le retraitement des données chromatographiques est réalisé grâce à l'interface du logiciel Chromeleon (Dionex).

VI.2.2.1. Chromatographie à polarité de phases inversées

La colonne utilisée est l'ACCLAIM OA (Dionex) de dimensions 4 x 250 mm et de diamètre de particules 5 μm . Cette phase stationnaire est constituée d'un copolymère styrène-divinylbenzène, sur lequel sont greffés des groupements fonctionnels, dont la nature est gardée secrète par le constructeur. Ces groupements ont pour rôle d'augmenter la rétention des acides organiques hydrophiles, habituellement peu retenus par cette méthode chromatographique.

Sur cette colonne, l'élution des composés est obtenue en mode isocratique par l'utilisation d'une phase mobile à pH acide, de type acide carboxylique + sel de fond. L'acide carboxylique permet d'obtenir une phase mobile à pH acide (dans laquelle les acides organiques vont se trouver sous forme peu ou pas dissociée, ce qui va permettre la rétention par la phase stationnaire apolaire), tandis que le sel dissout va jouer le rôle d'ions compétiteurs vis-à-vis des groupements de la phase stationnaire, ce qui a pour rôle de diminuer la rétention des analytes. L'éluant standard est constitué d'acide méthanesulfonique $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{OH}$ (noté MSA) et de sulfate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ et il est pompé à 1 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Cet éluant présente l'inconvénient d'être constitué d'un acide organique, ce qui empêche son utilisation en mode couplé, car l'ICPMS tolère peu les effluents à forte teneur en carbone, suite aux problèmes de bouchage de cônes qui en découlent.

VI. Annexes

VI.2.2.2. Chromatographie d'échange d'ions

Les colonnes échangeuses d'anions utilisées sont équipées de groupements fonctionnels de type ammonium quaternaire d'alcanol : AS7 (Dionex) 4 x 250 mm, hydrophobe et AS16 (Dionex) 4 x 250 mm, très peu hydrophobe ; ou de type amine tertiaire : Proswift Wax-1S (Dionex) 4,6 x 50 mm monolithique.

VI.2.2.2.1. AS7 (DIONEX)

Une première phase stationnaire de chromatographie d'échange d'anions a été étudiée. La colonne utilisée est l'AS 7 (Dionex) de dimensions 4 x 250 mm et de diamètre de particules 10 μm , à laquelle s'ajoute la colonne de garde AG 7 (4 x 50 mm). Cette phase stationnaire est constituée d'un coeur polymérique à base de styrène et divinylbenzène recouvert de groupements sulfonate, sur lequel sont greffées des microbilles de latex recouvertes de groupements ammonium quaternaire.

Sur cette colonne, l'élution des composés est obtenue en mode isocratique par l'utilisation d'une phase mobile à pH acide, de type acide inorganique fort. La concentration de l'acide fort de la phase mobile permet de fixer l'ionisation des acides organiques simples. La base conjuguée, anionique, joue le rôle d'ion compétiteur vis-à-vis des sites d'échange d'anions. L'éluant standard est constitué d'acide nitrique 30 mmol.L^{-1} , pompé à 0,25 mL.min^{-1} .

VI.2.2.2.2. AS16 (DIONEX)

La seconde colonne d'échange d'anions utilisée est l'AS 16 (Dionex) de dimensions 4 x 250 mm et de diamètre de particules 9 μm , munie de sa colonne de garde AG 16 (4 x 50 mm ; 13 μm). La structure de cette phase stationnaire est identique à celle de l'AS 7. Les groupements échangeurs d'anions sont de type ammonium quaternaire.

En mode isocratique, l'éluant standard de cette colonne est composé d'hydroxyde de sodium. Or, dans la thèse, nous cherchons à étudier la complexation entre les acides organiques simples et l'uranium. Afin d'éviter toute complexation parasite, on va se placer en milieu plutôt acide. En effet, dans cette gamme de pH, les effets de l'hydrolyse et de la complexation par les carbonates (provenant du dioxyde de carbone atmosphérique) sont restreints. Les phases mobiles que nous avons utilisées sont donc constituées d'un acide inorganique auquel on ajoute éventuellement un sel de fond pour contrôler la force éluante. Elles sont pompées à travers la colonne à un débit de 0,25 mL.min^{-1} .

VI. Annexes

VI.2.2.2.3. PROSWIFT WAX-1 (DIONEX)

La dernière colonne d'échange d'anions utilisée est la Proswift Wax-1S (Dionex) de dimensions 4,6 x 50 mm. Cette phase stationnaire est constituée d'un monolithe macroporeux de polymétacrylate, à la surface duquel sont greffés les groupements fonctionnels amine tertiaire, qui sont des échangeurs d'anions faibles.

Sur cette colonne, le mode d'élution standard des analytes est un gradient de pH dont l'éluant initial est un tampon Tris et l'éluant final une solution concentrée de NaCl à 1 mol.L⁻¹. L'ion chlorure joue ici le rôle d'ion compétiteur, tandis que l'utilisation d'un tampon sert à fixer l'état d'ionisation des groupements de surface et des analytes. Le débit classique est de 1 mL.min⁻¹, et cette valeur doit être atteinte progressivement afin de ne pas endommager la structure macroporeuse du monolithe.

VI.2.2.3. Chromatographie d'exclusion d'ions

La colonne échangeuse de cations utilisée pour l'exclusion des anions organiques étudiés est l'HyperRez XP Carbohydrate-H⁺ (Thermo Scientific) de diamètre de particules 8 µm et de dimensions 7,7 x 300 mm. Cette phase stationnaire est constituée d'un cœur polymérique à base de styrène et divinylbenzène recouvert de groupements échangeurs de cations. Pour cette colonne, le contre-ion échangeable, immobilisé par les groupements chargés, est un H⁺.

Sur cette colonne, l'élution des composés est obtenue en mode isocratique par l'utilisation d'une phase mobile contenant une faible concentration (5 mmol.L⁻¹) d'acide sulfurique. Des expériences ont été menées pour tenter d'y substituer de l'acide chlorhydrique (plus adapté à une future étude de complexation de l'uranium car le contre-ion Cl⁻ est moins complexant que SO₄²⁻).

VI.2.2.4. Chromatographie d'appariement d'ions

La première colonne utilisée est la Discovery C18 (Supelco) de diamètre de particules 5 µm et de dimensions 4,6 x 250 mm. Cette phase stationnaire est une silice greffée C₁₈ par des groupements octadécylsilane. Ce type de phase stationnaire est employée en suivant un protocole opératoire complexe : la colonne est d'abord saturée avec du cétrimide, en la rinçant pendant 10 h avec une phase mobile contenant 1 mmol.L⁻¹ de cétrimide dans un mélange constitué de 70% d'eau désionisée et 30% de méthanol. L'élution peut ensuite être réalisée par une phase mobile polaire, les analytes étant retenus par la phase stationnaire apolaire par formation d'une paire d'ions avec le cétrimide. Typiquement, on utilise l'eau désionisée comme phase éluante.

VI. Annexes

La seconde colonne utilisée est la TSK-Gel Super-ODS (Tosoh Bioscience) de diamètre de particules 2 μm et de dimensions 4,6 x 100 mm. Cette phase stationnaire est une silice greffée C_{18} . La phase mobile standard est composée de 5 % de méthanol et de 95 % d'une solution aqueuse à 5 mmol.L^{-1} de bromure de tétrabutylammonium (un surfactant cationique à longue chaîne), qui joue le rôle d'agent d'appariement d'ions.

VI.2.2.5. Chromatographie sur carbone graphitique poreux

La colonne utilisée est l'Hypercarb (Thermo Scientific) de diamètre de particules 5 μm et de dimensions 4,6 x 100 mm. Cette phase stationnaire est constituée d'un empilement de feuillets de carbone graphitique.

L'éluant standard en mode isocratique est constitué d'acide trifluoroacétique dilué. Son principal inconvénient est d'utiliser un acide fluoro-carboxylique, ayant de très bonnes propriétés de complexation vis-à-vis de l'uranium, les acides fluoro-carboxyliques étant des acides plus forts que les acides carboxyliques conjugués.

VI.2.3. Electrophorèse capillaire

L'électrophorèse capillaire utilisée est un appareil P/ACE MDQ commercialisé par Beckman Coulter, Inc. (Fullerton, USA). L'électrophorèse est une technique permettant la séparation des ions d'un mélange par application d'un champ électrique. Elle est nommée électrophorèse capillaire car la séparation est effectuée au sein d'un long tube (de 20 à 100 cm) de faible diamètre (50, 75 ou 100 μm). Elle permet d'obtenir des séparations avec de très bonnes résolutions (jusqu'à plus de 10^5 plateaux par mètre), uniquement limitée par la dispersion axiale des analytes.

VI.2.4. Interface de couplage EC-ICPMS

Les expérimentations menées grâce au couplage EC-ICPMS ont nécessité l'emploi de l'interface Mira Mist CE (Bürgener Research). Un schéma de cette interface est donné ci-dessous :

VI. Annexes

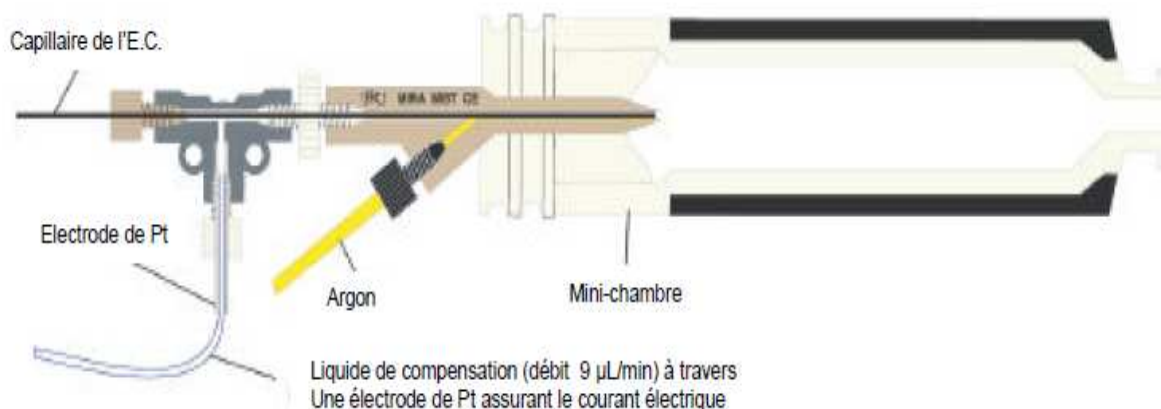


Figure 53 : Schéma de l'interface Mira Mist CE utilisée au cours de la thèse [13].

Une chambre de nébulisation cyclonique de faible volume est utilisée avec cette interface, dans le but de minimiser les volumes morts et de diminuer les temps de rinçage.

Au cours de nos expériences, il a été constaté la remontée de nitrates dans le capillaire de séparation, provenant du liquide de compensation. Ceci s'explique par la forte mobilité des nitrates. Ce phénomène n'a pas induit de complexation parasite dans les expériences menées au cours de la thèse, au vu des très faibles propriétés complexantes des nitrates.

VI.2.5. Spectrophotomètre UV/visible

Le spectrophotomètre utilisé au cours de cette thèse est le modèle UV-2550 du constructeur Shimadzu.

VI.3. Principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse

Un spectromètre de masse sépare des ions de rapport masse/charge différents grâce à l'action d'un champ électromagnétique. Lorsqu'un échantillon est introduit dans le spectromètre, il est tout d'abord vaporisé puis transformé en ions de masses distinctes, principalement monochargés. Un spectromètre de masse permet ensuite de trier cet ensemble d'ions, de mesurer leurs masses, de déterminer leurs abondances et éventuellement de les fragmenter en ions de plus petites tailles. L'unité de masse atomique est notée u et vaut par définition $1/12$ de la masse de l'isotope ^{12}C du carbone, soit environ $1,66 \cdot 10^{-27}$ kg. La charge d'un ion vaut ze , avec z étant un nombre entier et e la charge élémentaire valant $1,6 \cdot 10^{-19}$ C.

L'analyse par spectrométrie de masse nécessite donc la formation d'ions, à l'état gazeux, à partir de l'échantillon. Initialement, les techniques d'ionisation étaient plutôt adaptées à des échantillons gazeux, volatils (bombardement électronique ou ionisation chimique) ou solides (étincelle ou thermo-ionisation). Désormais, une large gamme de méthodes est disponible pour l'analyse d'échantillons minéraux, organiques ou bio-organiques, quel que soit leur état physique, éventuellement passés par une étape de séparation (chromatographie liquide, électrophorèse capillaire...). Par exemple, les techniques de désorption comme le MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation) permettent l'analyse de molécules de haute masse molaire ($> 10^5$ Da), non volatiles et/ou thermolabiles, issus des domaines biologique (protéines) ou industriel (polymères).

L'analyse des ions est réalisée par l'action d'un champ électrique, magnétique ou de la combinaison des deux. Les analyseurs à secteur magnétique utilisent un champ magnétique variable. Dans les analyseurs à résonance cyclotronique, les ions sont piégés sur une orbite circulaire grâce à un champ magnétique fixe, la détection du courant induit par ce mouvement permet d'identifier l'ion. Les filtres quadripolaires et les pièges à ions utilisent un champ électrique sinusoïdal radiofréquence d'amplitude variable pour la séparation, tandis que les analyseurs à temps de vol reposent sur l'emploi de champs électriques fixes et pulsés. Enfin, la spectrométrie de masse tandem combine plusieurs types d'analyseurs.

VI.3.1. Nébuliseur

VI.3.1.1. Nébuliseur pneumatique

Les nébuliseurs pneumatiques conventionnels sont compatibles avec les débits de la chromatographie liquide (de l'ordre de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$). Il en existe trois types :

- les nébuliseurs concentriques, dont les flux gazeux et liquide sont coaxiaux (tel que le nébuliseur Meinhard) ;

VI. Annexes

- les nébuliseurs à flux croisés, dont les flux gazeux et liquide sont perpendiculaires ;
- et les nébuliseurs en V, pour lesquels le liquide s'écoule le long d'une paroi et la nébulisation s'effectue grâce à un gaz à grande vitesse, ils permettent de s'affranchir des problèmes de bouchage pour les fortes teneurs en sels de la phase mobile.

Ces nébuliseurs présentent l'inconvénient de produire des gouttes de diamètre moyen élevé (plusieurs dizaines de micromètres) avec une répartition non homogène de la taille des gouttes. Une chambre de nébulisation est nécessaire en sortie du nébuliseur pour trier les gouttes et envoyer dans le plasma uniquement les plus petites. L'efficacité de ce type de nébuliseur est très faible : seulement 1 à 3 % du volume de l'échantillon introduit pénètre dans le plasma.

Des micronébuliseurs, adaptés aux débits de phase mobile plus faibles (de l'ordre de 10 à 100 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, par exemple ceux destinés au couplage électrophorèse capillaire-ICPMS), ont été créés afin d'augmenter l'efficacité de nébulisation. Ce sont principalement le nébuliseur haute efficacité (HEN, Meinhard), le microconcentrique MCN-100 (CETAC) et le MicroMist (Glass Expansion).

VI.3.1.2. Nébuliseur ultrasonique

Dans un nébuliseur ultrasonique, l'échantillon est envoyé à la surface d'un transducteur piézo-électrique oscillant à haute fréquence. Les oscillations dispersent l'échantillon et un aérosol très fin se forme alors. L'efficacité de transport de l'aérosol est de l'ordre de 10 à 30 % et le nébuliseur ultrasonique est équipé d'un système de désolvatation qui permet d'améliorer grandement l'efficacité de la nébulisation.

VI.3.1.3. Nébuliseur à injection directe

Ce type de nébuliseurs est destiné uniquement aux couplages avec l'ICPMS, car leur principe est d'injecter directement l'aérosol dans le plasma, sans passer par une étape de tri dans une chambre de nébulisation. Les performances de nébulisation sont grandement améliorées par rapport au nébuliseur Meinhard : le diamètre des gouttes formées est petit, avec un faible écart-type.

Les principaux exemples de cette catégorie de nébuliseurs sont les DIN (direct injection nebulizer) et DIHEN (direct injection high efficiency nebulizer). Ce sont des nébuliseurs microconcentriques placés directement à l'intérieur de la torche ICP, leur pointe est située à quelques millimètres de la base du plasma. Une efficacité de

VI. Annexes

transport de 100 % peut être théoriquement obtenue et ils fonctionnent avec de faibles débits de phase mobile (plusieurs dizaines de $\mu\text{L}.\text{min}^{-1}$), ce qui permet d'éviter l'instabilité du plasma. Finalement, leur faible volume combiné à l'absence de chambre de nébulisation réduit les phénomènes d'effet mémoire. Des limitations existent toutefois dans le choix de la phase mobile : le diamètre de ces nébuliseurs est faible, ce qui les rend sujets au bouchage lors de l'utilisation phases mobiles riches en sel.

VI.3.2. Chambre de nébulisation

VI.3.2.1. Chambre de sédimentation

Le but de ce type de chambre est de sédimenter les plus grosses gouttelettes de l'aérosol sur un trajet horizontal. Le modèle le plus utilisé est la chambre de Scott.

VI.3.2.2. Chambre cyclonique

Les plus grosses gouttelettes sont éliminées par la force centrifuge, induite par la forme de la chambre. Elles se condensent sur la paroi, tandis que les plus fines gouttelettes sont aspirées par l'effet Venturi du plasma. L'efficacité de transport est améliorée avec ce type de chambre de nébulisation.

VI.4. Théorie de la chromatographie liquide

VI.4.1. Temps et volume de rétention

Le temps de rétention t_R est le temps d'élution au sommet du pic chromatographique, mesuré à partir de l'injection de l'échantillon.

Pour un débit constant de phase mobile, le volume de rétention V_R se définit comme suit :

$$V_R = t_R u s \varepsilon \quad (\text{Eq.136})$$

avec u vitesse linéaire de la phase mobile, s section droite de la colonne et ε porosité de la colonne.

Ce volume de rétention peut être relié aux volumes de phase mobile V_m et stationnaire V_s contenus dans la colonne :

$$V_R = V_m + K_p V_s \quad (\text{Eq.137})$$

On définit le facteur de capacité k' pour décrire la rétention tout en s'affranchissant des propriétés du système chromatographique ; c'est le rapport entre quantité d'analyte dans la phase stationnaire et dans la phase mobile :

$$k' = K_p \frac{V_s}{V_m} = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (\text{Eq. 138})$$

où t_0 désigne le temps de rétention nulle (pour un composé non retenu).

Finalement, le temps de rétention s'écrit :

$$t_R = \frac{L}{u} (1 + k') \quad (\text{Eq. 139})$$

avec L longueur de la colonne.

VI. Annexes

VI.4.2. Sélectivité

La distance entre deux sommets de pics 1 et 2 est caractérisée par la sélectivité α :

$$\alpha = \frac{t_{R1} - t_0}{t_{R2} - t_0} = \frac{k'_2}{k'_1} = \frac{K_{p2}}{K_{p1}} \quad (\text{Eq. 140})$$

VI.4.3. Résolution

La résolution R_s entre deux pics chromatographiques permet de d'estimer la qualité de la séparation.

$$R_s = 2 \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\omega_1 + \omega_2} \quad (\text{Eq. 141})$$

On considère généralement que la séparation est bonne (s'il y a retour à la ligne de base entre les deux pics) quand $R > 1,5$.

VI.4.4. Efficacité

Une colonne chromatographique efficace permet l'obtention de pics peu étalés. L'efficacité se définit par le nombre de plateaux théoriques N , qui sera d'autant plus grand que la colonne est efficace :

$$N = 16 \left(\frac{t_R}{\omega} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{t_R}{\delta} \right)^2 \quad (\text{Eq. 142})$$

avec ω largeur du pic à la base et δ largeur du pic à mi-hauteur.

N correspond au nombre d'équilibres successifs qu'a subi l'analyte au cours de son passage sur la colonne.

On s'affranchit de la longueur de la colonne en utilisant la hauteur de plateau théorique H :

$$H = \frac{L}{N} \quad (\text{Eq. 143})$$

VI.4.5. Mécanismes de dispersion d'un pic d'élution

Pour optimiser l'efficacité d'une colonne chromatographique, les conditions analytiques doivent être choisies pour maximiser N , ce qui revient à minimiser H .

VI. Annexes

L'étalement d'une bande d'analyte provient de trois phénomènes :

- la dispersion des molécules par dispersion longitudinale,
- l'anisotropie d'écoulement (existence de passages préférentiels),
- et la résistance au transfert de masse entre les deux phases.

Ces phénomènes étant indépendants, on écrit :

$$H = H(\text{écoulement}) + H(\text{diff. long.}) + H(\text{transf. masse}) \quad (\text{Eq. 144})$$

Le modèle généralement employé est celui de Knox, décrit succinctement ci-dessous :

$$H = Au^{1/3} + \frac{B}{u} + Cu \quad (\text{Eq. 145})$$

Le terme décrivant l'anisotropie d'écoulement découle de l'existence de passages préférentiels et du fait que la vitesse d'écoulement est plus grande au milieu des pores qu'à proximité des particules. Toutefois, un analyte n'est pas confiné à une veine de liquide, ce qui limite l'effet de ce terme. C'est un terme difficile à modéliser, mais Knox a montré qu'on pouvait le considérer avec une bonne approximation sous la forme $Au^{1/3}$.

Le terme décrivant la diffusion moléculaire longitudinale provient de l'apparition d'un gradient de concentration au sein de la bande d'analyte, ce qui conduit à sa diffusion des régions de fortes concentrations vers celles aux faibles concentrations. Ce terme fait intervenir les coefficients de diffusion dans les phases mobile et stationnaire et est proportionnel au temps passé dans chacune des phases, c'est-à-dire inversement proportionnel à u . On le modélise sous la forme B/u .

Le terme de résistance au transfert de masse provient du fait que l'équilibre entre les deux phases n'est jamais vraiment atteint, à cause de leur mouvement relatif. Ainsi, il augmente proportionnellement avec la vitesse linéaire d'écoulement dans la colonne. On le modélise donc sous la forme Cu .

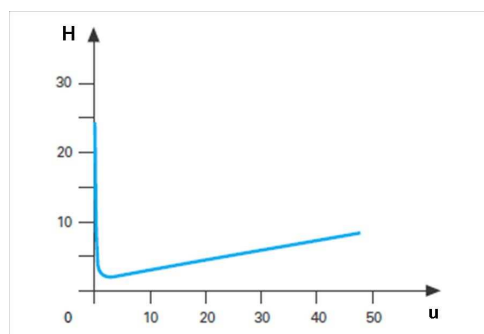


Figure 54 : Variation de la hauteur de plateau en fonction de la vitesse linéaire d'écoulement ; modélisation de Knox [67].

VI.5. Fonctionnement d'une électrophorèse capillaire

VI.5.1. Généralités

L'électrophorèse implique la séparation d'espèces chargées sous l'influence d'un champ électrique, généralement sur la base de leur rapport charge sur masse. L'invention de l'électrophorèse capillaire remonte à la fin des années 1960, quand Hjertén [165] puis Everaerts et Keulemans montrèrent que les problèmes de convection liés à l'effet Joule observés en électrophorèse sur support solide pouvaient être contrôlés en travaillant dans des tubes en téflon. Dès 1970, des séparations d'acides organiques [166] par électrophorèse de zone dans des tubes capillaires avec détection thermique ont été décrites.

VI.5.2. Appareillage

VI.5.2.1. Structure générale de l'appareil d'électrophorèse capillaire

Les extrémités du capillaire sont plongées dans des réservoirs de tampons ioniques, les électrolytes, et reliés par un générateur haute tension, comme décrit sur la figure 55. L'échantillon est injecté dans le flux d'électrolyte, ce qui mène à la séparation des constituants de l'échantillon sous l'effet de la tension appliquée (jusqu'à 30 kV), car chaque ion migre avec sa vitesse propre jusqu'au détecteur UV/vis. Celui-ci est situé environ 10 cm avant le réservoir de sortie, il s'agit d'un détecteur spectrophotométrique, qui, après ajout éventuel d'un ion chromophore à l'électrolyte, permet de visualiser le passage des différentes espèces sous forme de pics dans un électrophorégramme.

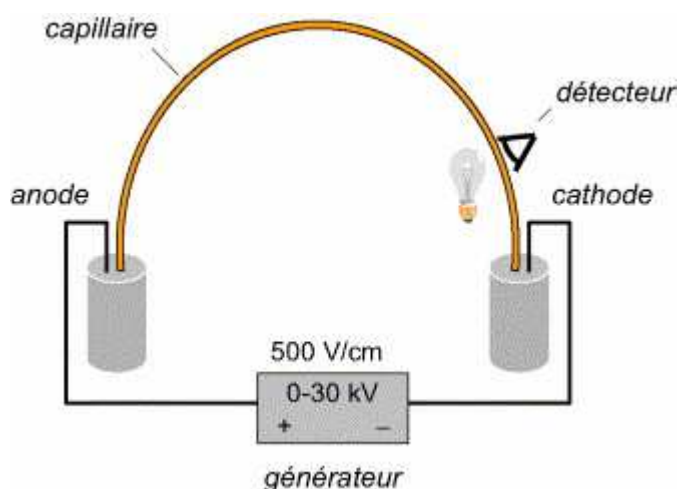


Figure 55 : Schéma de principe de l'électrophorèse capillaire.

VI. Annexes

On utilise généralement des tensions de 5 à 30 kV, ce qui génère des courants de l'ordre de quelques dizaines de micro-ampères. A tension constante, l'intensité du courant électrique varie avec la conductivité de l'électrolyte. Un système de thermostatisation du capillaire est également installé, pour limiter l'échauffement du capillaire provoqué par effet Joule, au vu des hautes tensions mises en jeu.

Le plus souvent, le capillaire est en silice fondue, matériau transparent aux ultraviolets et stable chimiquement dans un domaine de pH étendu (de 2 à 11). Ceci va permettre de détecter l'absorbance UV/vis. de la solution qui traverse le capillaire. Afin de le rendre souple et résistant à la cassure, une gaine de polyimide lui est ajoutée, excepté au niveau de la fenêtre de détection. La paroi interne du capillaire est constituée de silice fondue, comportant en surface des groupements silanols $\equiv\text{Si-OH}$, qui vont être à l'origine d'un écoulement électroosmotique.

VI.5.2.2. Injection de l'échantillon [167]

VI.5.2.2.1. INJECTION HYDRODYNAMIQUE PAR SURPRESSION

Ce mode d'injection consiste à créer une différence de pression entre les deux extrémités du capillaire pendant une durée de quelques secondes. Ceci peut être obtenu soit en créant une surpression au niveau du flacon de l'échantillon, qui va pousser l'échantillon à l'intérieur du capillaire, soit en générant une dépression à la sortie du capillaire, de manière à aspirer l'échantillon placé en entrée de capillaire.

Le volume d'échantillon injecté dépend de nombreux paramètres du système selon l'équation de Poiseuille [72] :

$$V_0 = \frac{\Delta p_0 \pi \phi^4 t_0}{128 \eta L_{\text{tot}}} \quad (\text{Eq. 146})$$

avec : V_0 volume d'échantillon injecté (en cm^3)
 Δp_0 différence de pression (en dyne.cm^{-2} ; $1 \text{ dyne.cm}^{-2} = 0,1 \text{ Pa}$)
 ϕ diamètre interne du capillaire (en cm)
 t_0 temps d'injection de l'échantillon (en s)
 η viscosité de l'échantillon (en poise ; $1 \text{ Po} = 0,1 \text{ Pa.s}$)
 L_{tot} longueur totale du capillaire (en cm)

Il s'ensuit que la quantité d'échantillon introduite dans le capillaire est généralement comprise entre 1 et 10 nL.

L'injection hydrodynamique est actuellement la méthode la plus utilisée, de par sa très bonne reproductibilité, son application possible à tout type d'analyte (neutre ou ionique) et sa mise en œuvre simple et pratique (elle ne modifie pas la

VI. Annexes

composition de l'échantillon et le volume injecté ne dépend pas de la conductivité de l'électrolyte). Toutefois, il est important de noter que le volume injecté dépend fortement de la viscosité de la solution, et donc, de la température de l'échantillon.

VI.5.2.2.2. INJECTION HYDRODYNAMIQUE PAR GRAVITE

Il existe une autre technique d'injection hydrodynamique, plus marginale, qui consiste à surélever le flacon d'échantillon (par rapport au flacon de sortie) afin de créer une surpression proportionnelle à la différence de hauteur, selon l'expression :

$$\Delta p_0 = \rho \cdot g \cdot \Delta h_0 \quad (\text{Eq.147})$$

avec : ρ masse volumique de l'échantillon (en kg.m^{-3})
 g accélération due à la pesanteur (en N.kg^{-1})
 Δh_0 différence de hauteur entre les flacons (en m)

Le terme d'injection hydrodynamique s'applique également à la technique du remplissage du capillaire par gravité. Ici, la section interne du capillaire constitue le principal facteur limitant : par exemple, il est impossible d'injecter par gravité quand le diamètre interne du capillaire est inférieur à $30 \mu\text{m}$ [71].

VI.5.2.2.3. INJECTION ELECTROCINETIQUE

L'injection électrocinétique vise à introduire les analytes dans le capillaire de séparation par application d'une haute tension pendant une durée très courte. Les solutés vont alors migrer dans le capillaire sous l'effet du champ électrique, avec des vitesses de déplacement propres à chaque composé.

Ce mode d'injection est sélectif et discriminant car la quantité de soluté injecté dépend à la fois de sa concentration, mais aussi de sa « mobilité électrophorétique » (caractéristique d'un ion que nous définirons plus loin). Ainsi, les composés seront introduits dans le capillaire en quantité d'autant plus importante qu'ils sont mobiles. Les différents constituants de l'échantillon sont donc injectés dans une composition différente de celle initiale. D'autre part, le volume injecté dépend fortement de la viscosité de l'électrolyte, ce qui va se traduire par une erreur systématique dans les analyses quantitatives.

Ce mode d'injection sera particulièrement employé quand l'électrolyte est trop visqueux pour pouvoir être pompé ou dans le cas d'une analyse qualitative.

VI. Annexes

VI.5.2.3. Détection de l'échantillon [167]

La principale exigence des détecteurs employés en électrophorèse capillaire est d'avoir une bonne sensibilité, au vu des faibles volumes d'échantillons analysés et du faible trajet optique disponible dans le sens transverse du capillaire (environ 50 μL). De nombreux modes de détection sont commercialisés : spectrophotométrie UV/visible à longueur d'onde fixe ou variable, à barrettes de diodes ; fluorescence laser ; spectrométrie de masse, et plus rarement, ampérométrie, conductimétrie, radiométrie.

VI.5.2.3.1. DETECTION UV/VIS. DIRECTE

Tous les appareils commercialisés disposent de ce mode de détection, et la détection des composés s'effectue généralement une dizaine de centimètres avant la sortie du capillaire, à travers une fenêtre de longueur 1 cm aménagée dans la gaine opaque de polyimide du capillaire. Ceci s'opère par combustion de la gaine, le capillaire devient ensuite cassant au niveau de la fenêtre de détection, et il convient de la manipuler avec précaution, en particulier lors de l'introduction dans la cartouche. Pour pouvoir être utilisé, il faut que le soluté à analyser ait des propriétés chromophores, c'est-à-dire qu'il absorbe la lumière à une ou plusieurs longueurs d'onde.

Les lampes utilisées sont de plusieurs types :

- lampe au mercure basse pression ($\lambda = 254 \text{ nm}$) : bande passante étroite et forte intensité d'émission.
- photomètre multi-longueurs d'onde à filtres : lampe au mercure moyenne pression, bonne sensibilité à $\lambda = 254, 280, 313$ et 335 nm .
- lampe au deutérium ou arc à xénon : source continue de $\lambda = 180$ à 380 nm .
- lampe au tungstène : domaine visible $\lambda = 380$ à 780 nm .
- barrette de diodes : balayage spectral de $\lambda = 190$ à 380 nm au cours de chaque analyse.

Les limites de détection pouvant être atteintes sont de l'ordre de 10^{-5} à $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ suivant les propriétés absorbantes du soluté.

VI.5.2.3.2. DETECTION UV/VIS. INDIRECTE

La détection spectrophotométrique par diminution d'absorbance est à la fois universelle et très utile pour détecter des espèces absorbant peu ou pas dans l'UV/vis.. Son principe repose sur le déplacement d'un ion du tampon (le co-ion) par l'analyte, provoquant donc une diminution de l'absorbance globale de l'électrolyte (à la longueur d'onde d'absorption maximale du co-ion) : ceci se traduit par l'apparition d'un pic négatif sur l'électrophorégramme quand un ion à analyser

VI. Annexes

traverse le capillaire au niveau du détecteur. Le logiciel de l'électrophorèse capillaire permet d'inverser le signal acquis pour obtenir un électrophorégramme plus conventionnel.

La nature et la concentration du co-ion jouent un rôle crucial dans la sensibilité de la méthode et plusieurs points doivent être respectés afin d'assurer une bonne séparation des analytes : le co-ion doit avoir une charge de même signe que les ions analysés, ainsi qu'une mobilité électrophorétique proche, sous peine d'élargissement du pic électrophorétique suite à la dispersion par électromigration ; le co-ion doit posséder un groupement chromophore et être en concentration telle que l'absorbance induite ne dépasse pas la limite du domaine de linéarité du détecteur ; il doit assurer un pouvoir tampon suffisant mais ne doit pas être trop conducteur, afin de minimiser l'effet Joule au sein du capillaire.

Ackermans a défini une relation théorique explicitant la diminution d'absorbance pour un électrolyte de type AB (dont le co-ion A absorbe, tandis que le contre-ion B n'absorbe pas) :

$$\Delta A_i = e_A \cdot l \cdot k_i \cdot C_i \quad (\text{Eq. 148})$$

avec : ΔA_i diminution d'absorbance causée par l'ion analysé i
 e_A coefficient d'absorptivité molaire de A
 l trajet optique
 k_i coefficient de réponse du soluté i, fonction des mobilités absolues de A, B et i
 C_i concentration de l'ion i

VI.6. Spectrophotométrie UV/visible

VI.6.1. Principe de fonctionnement

Le principe de la spectrophotométrie UV/vis. est l'absorption d'un rayonnement incident par les molécules analysées dans les gammes de longueur d'onde correspondant à l'ultraviolet (UV : 190 - 400 nm) et au visible (400 - 800 nm).

L'énergie des photons du rayonnement incident s'écrit :

$$E = \frac{hc}{\lambda} \quad (\text{Eq. 149})$$

avec h constante de Planck valant $6,63 \cdot 10^{-34}$ J.s, c la célérité de la lumière dans le vide valant environ $3 \cdot 10^8$ m.s⁻¹ et λ la longueur d'onde du rayonnement.

Les énergies des photons, dont les longueurs d'onde sont dans la gamme de l'UV/vis., sont comprises entre 1,5 et 6,5 eV environ. Ces valeurs correspondent aux énergies de transition des molécules. Ainsi, à température ambiante, les molécules sont dans leur état fondamental et l'absorption d'un photon va entraîner la modification de leurs états énergétiques électronique, de vibration et de rotation.

Pour les atomes, il n'existe que des états énergétiques électroniques quantifiés, et donc l'absorption de rayonnement ne peut se faire qu'avec des photons d'énergies bien définies. Ceci se traduit par un spectre de raies quasiment monochromatiques.

En revanche, la situation est plus complexe dans le cas des molécules (cf figure 56). Les états d'énergie quantifiés sont bien plus nombreux, car il y a combinaison de niveaux électroniques (écarts énergétiques de l'ordre de quelques électrons-volts, absorption dans l'UV/vis. comme les atomes), de niveaux de vibration (écarts énergétiques de l'ordre du dixième d'eV) et de niveaux de rotation (écarts énergétiques de l'ordre du millièème d'eV).

VI. Annexes

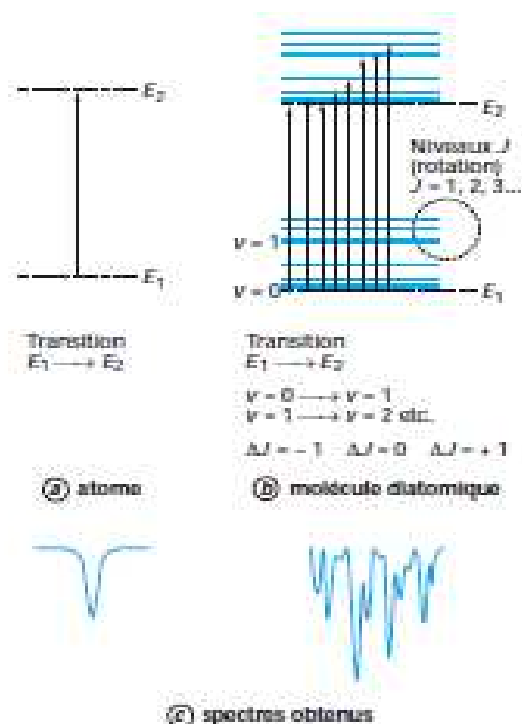


Figure 56 : Niveaux énergétiques électronique, de vibration et de rotation et spectres d'absorption correspondants [168].

La structure fine du spectre d'absorption disparaît quand les analytes sont mis en solution : classiquement, les spectres UV/vis. réalisés en milieu aqueux sont constitués de plusieurs bandes plus ou moins larges.

VI.6.2. Loi de Beer-Lambert

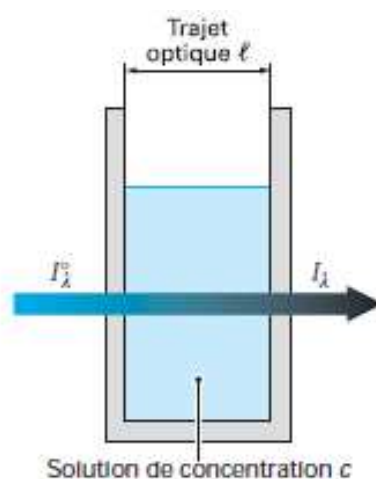


Figure 57 : Schéma d'une cellule d'absorption.

L'absorption du rayonnement UV/vis. par les molécules de l'échantillon permet de mesurer leur concentration en solution. A une longueur d'onde où seul

VI. Annexes

l'analyte absorbe le rayonnement incident I^0_λ , la loi de Beer-Lambert relie la quantité de rayonnement transmis I_λ à la concentration de l'analyte c et au trajet optique l :

$$I_\lambda = I^0_\lambda \exp(-\varepsilon_\lambda lc) \quad (\text{Eq. 150})$$

où ε_λ est le coefficient d'extinction moléculaire (en $\text{L.mol}^{-1}.\text{m}^{-1}$), caractéristique de l'absorption de la molécule analysée à la longueur d'onde λ .

On définit l'absorbance de la solution A_λ comme suit :

$$A_\lambda = \log\left(\frac{I^0_\lambda}{I_\lambda}\right) = \varepsilon_\lambda lc \quad (\text{Eq. 151})$$

L'intérêt de la loi de Beer-Lambert réside dans le fait que l'absorbance (quantité mesurée expérimentalement en spectrophotométrie UV/vis.) est proportionnelle à la concentration de l'analyte. La longueur de la cellule étant connue, un étalonnage permet de calculer ε_λ , et ainsi de mesurer les concentrations de l'analyte dans des concentrations inconnues.

VI.7. Chromatogrammes et figures correspondant aux expériences de séparation des acides organiques hydrophiles (cf tableaux 6a et 6b)

Les figures listées ici illustrent la synthèse des résultats chromatographiques, présentée dans les tableaux 6a et 6b au paragraphe III.2.2.

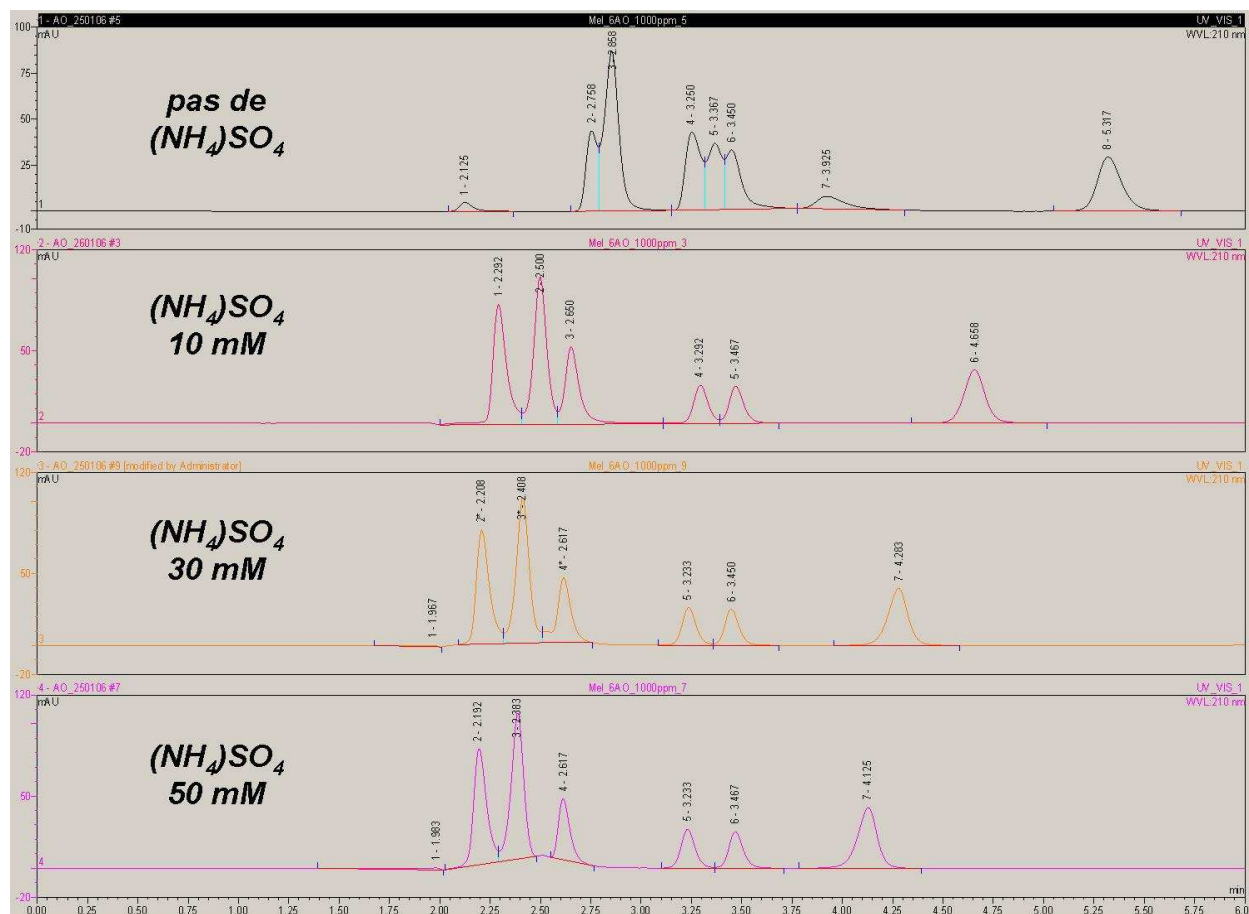


Figure 58 : Influence de la concentration en sulfate d'ammonium sur la séparation de 6 acides organiques d'intérêt.

Phase stationnaire : ACCLAIM OA.

Phase mobile (1 mL.min⁻¹) MSA 2,5 mmol.L⁻¹ (correspondant approximativement à pH = 2,6)
+ différentes concentrations en sulfate d'ammonium.

Echantillon : 6 acides organiques simples à 1000 ppm chacun.

VI. Annexes

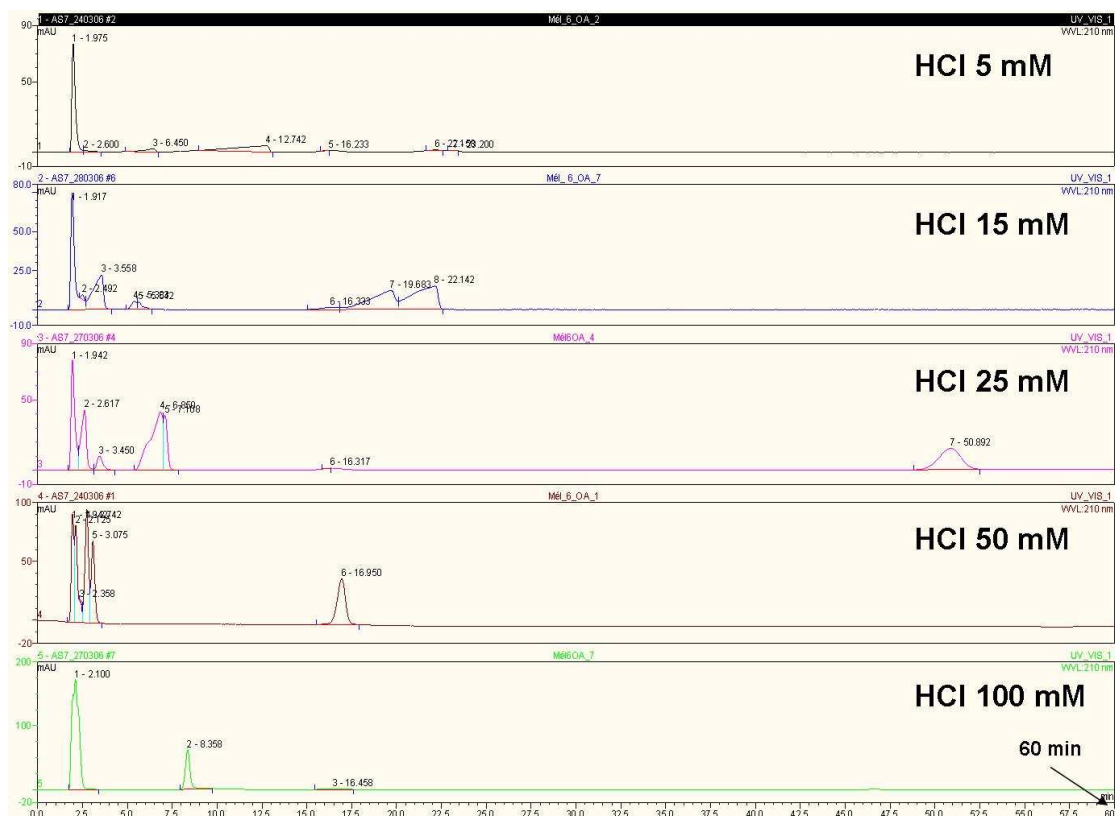


Figure 59 : Influence de la concentration en acide chlorhydrique sur la séparation de 6 acides organiques d'intérêt.

Phase stationnaire : AS 7 + AG 7.

Phase mobile ($0,5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) : HCl à différentes concentrations.

Echantillon : mélange de 6 acides organiques simples à 1000 ppm chacun.

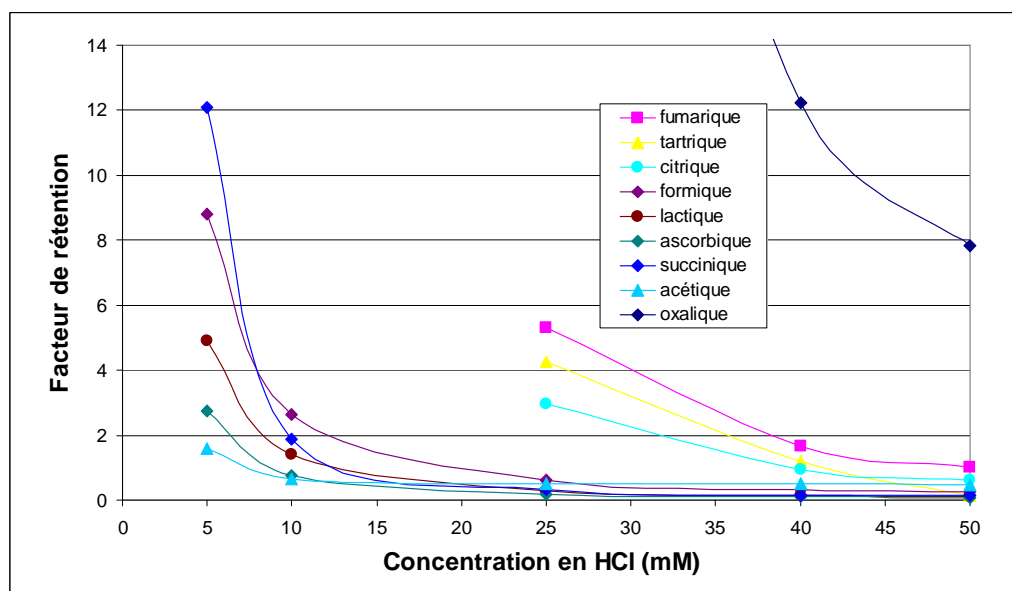


Figure 60 : Influence de la concentration en acide chlorhydrique sur la rétention de 9 acides organiques.

Phase stationnaire : AS 16 + AG 16.

Phase mobile ($0,25 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) : HCl à différentes concentrations.

Echantillons : chaque acide organique à 1000 ppm.

VI. Annexes

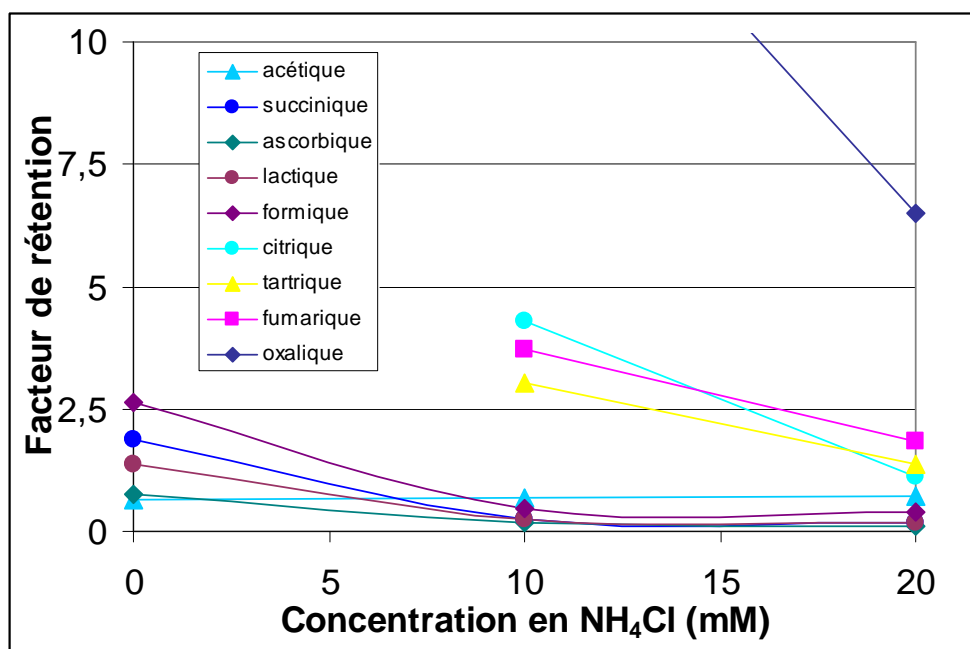


Figure 61 : Influence de la concentration en chlorure d'ammonium sur la rétention des 9 acides organiques.

Phase stationnaire : AS 16 + AG 16.

Phase mobile (0,25 mL.min⁻¹) : HCl 10 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl à différentes concentrations.

Echantillons : chaque acide organique à 1000 ppm.

Débit (mL.min ⁻¹)	t _R (s)	δ (s)	N	H (mm)
0,5	281	232	8	6,2
0,7	191	148	9	5,4
0,9	150	101	12	4,1
1,1	124	67	19	2,6
1,3	102	58	17	2,9
1,5	87	54	15	3,4

Tableau 29 : Mesure de l'efficacité de la colonne ProSwift WAX-1S à différents débits de phase mobile.

Le mode d'élution est un gradient de pH H₂O → HCl 10 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl 1 mol.L⁻¹ pH = 2 en 10 minutes. L'échantillon analysé est constitué d'acide oxalique à 1000 ppm.

VI. Annexes

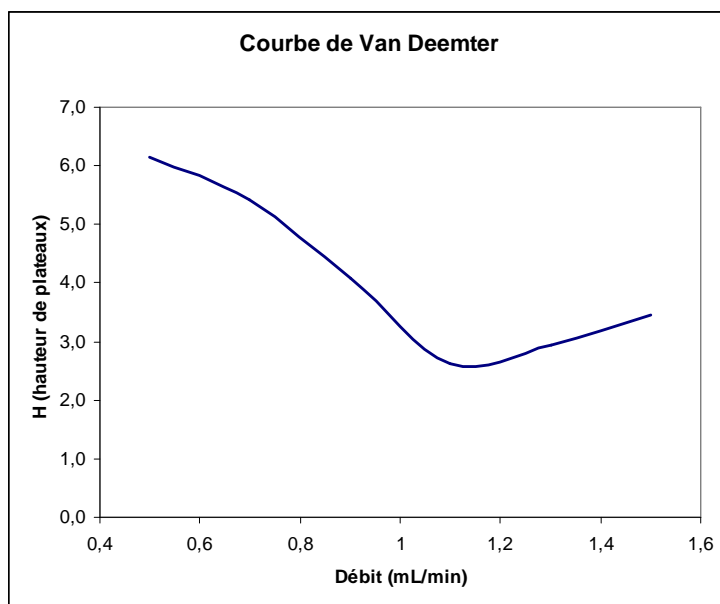


Figure 62 : Courbe de Van Deemter relative à la colonne ProSwift WAX-1S : évolution de la hauteur de plateau en fonction du débit de phase mobile.
Les conditions analytiques sont décrites dans le tableau 29.

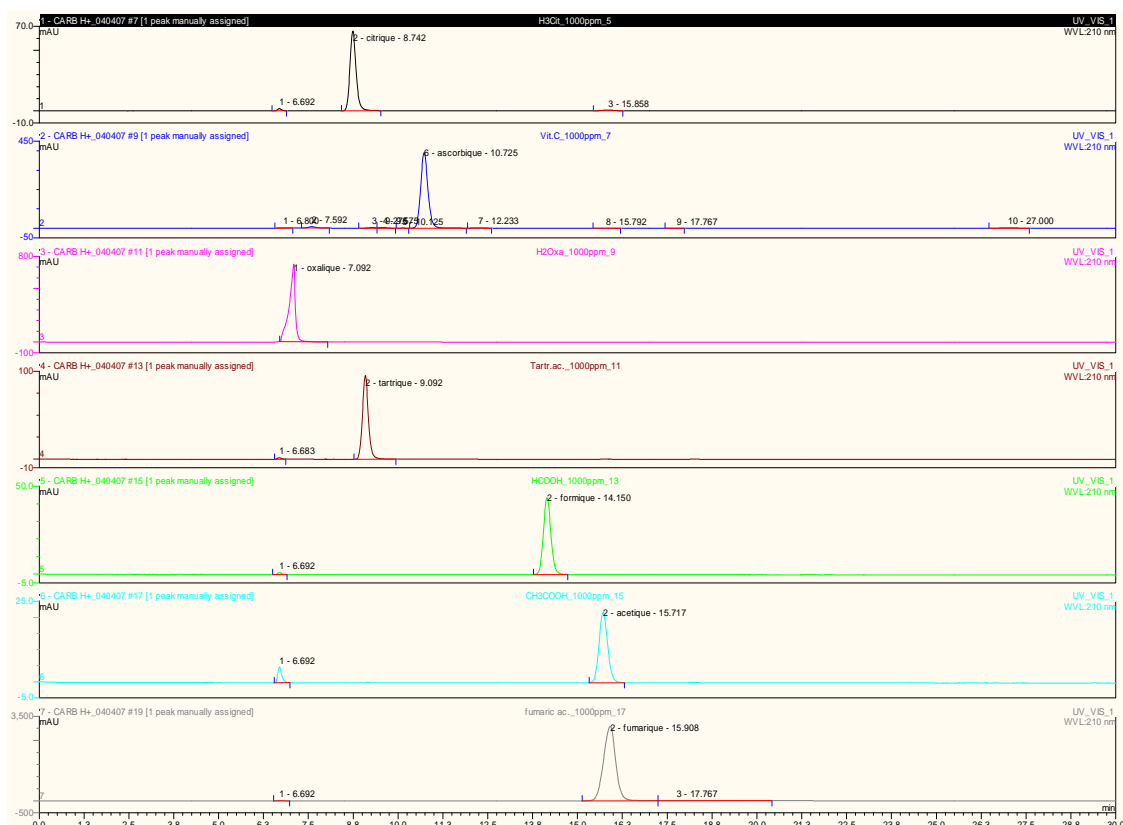


Figure 63 : Chromatogrammes obtenus avec la concentration d'éluant optimisée.

Phase stationnaire : HyperRez XP Carbohydrate-H+.

Phase mobile ($0,6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) : $\text{HCl } 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Echantillons : acide citrique, ascorbique, oxalique, tartrique, formique, acétique ou fumarique à 1000 ppm .

VI. Annexes

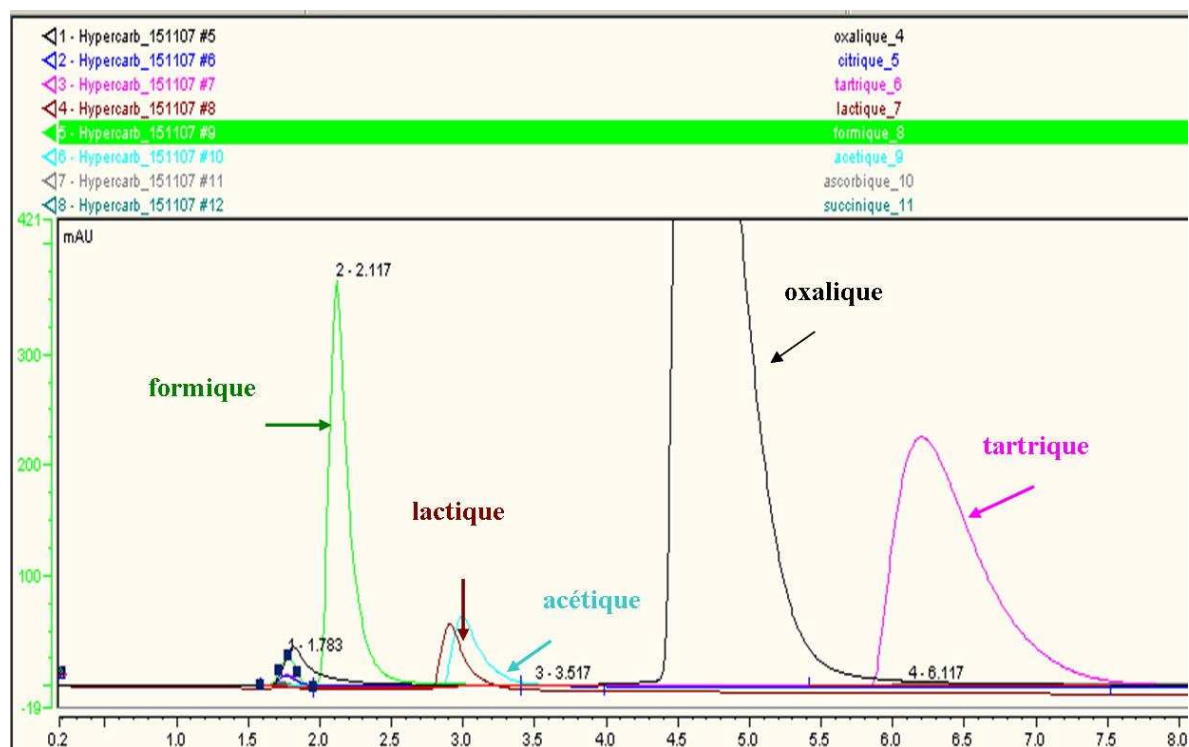


Figure 64 : Superposition des chromatogrammes obtenus avec l'éluant standard.

Phase stationnaire : Hypercarb.

Phase mobile (0,8 mL.min⁻¹) : acide trifluoroacétique 0,08 % en masse.

Echantillons : acide citrique, oxalique, tartrique, formique, acétique, ascorbique, succinique ou lactique à 1000 ppm.

VI.8. Optimisation du couplage EC-ICPMS

VI.8.1. Optimisation des procédures analytiques de l'EC

L'objectif de cette partie est de présenter les bonnes pratiques adoptées lors de la manipulation du couplage EC-ICPMS. L'électrophorèse capillaire est une technique analytique assez simple à mettre en œuvre, mais qui requiert quelques expériences préliminaires pour vérifier que les conditions analytiques choisies permettent l'obtention de résultats fiables et répétables.

VI.8.1.1. Loi d'Ohm

Avant toute utilisation d'un nouvel électrolyte dans une analyse, l'expérimentateur doit vérifier que la loi d'Ohm est bien satisfaite dans les conditions analytiques désirées. Cela signifie que la relation entre la tension appliquée U et l'intensité du courant circulant dans le capillaire est linéaire dans la gamme de tensions choisie. Généralement, on travaille avec une tension donnée, il suffit donc de vérifier la linéarité de la loi d'Ohm jusqu'à la tension de travail. Pour ce faire, l'électrolyte est injecté pour remplir la totalité du capillaire, et on applique différentes valeurs de tension, puis on mesure l'intensité obtenue. Après tracé graphique de ces données, on vérifie par régression linéaire que la loi d'Ohm est satisfaite (cf figure 65).

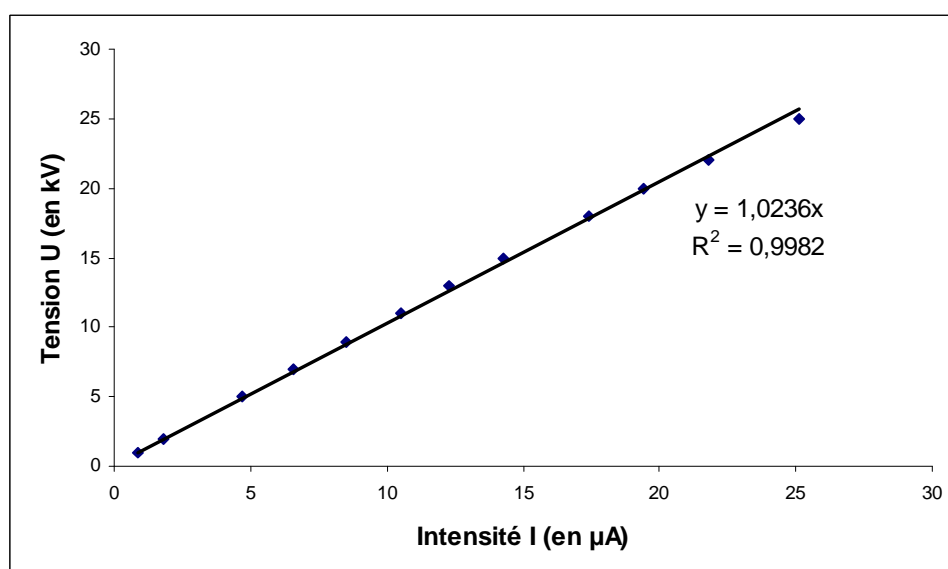


Figure 65: Loi d'Ohm pour l'électrolyte utilisé pour la détermination des constantes de complexation du système uranyle-oxalate : tampon pyridine 25 mmol.L⁻¹ + NH₄Cl / I_{tot} = 100 mmol.L⁻¹.

VI. Annexes

Lorsque la loi d'Ohm n'est pas satisfaite, il se produit une augmentation de la température au sein du capillaire, qui conduit à une diminution de la viscosité de l'électrolyte et une augmentation de l'intensité. Dès lors, l'échauffement au sein du capillaire est accru et ainsi de suite. L'intensité du courant augmente donc petit à petit sans se stabiliser. Dans ce cas, la pente du graphique $U = f(I)$ diminue pour les valeurs élevées de U . On choisira donc de travailler à la tension U la plus élevée, pour laquelle l'intensité I vérifie encore la loi d'Ohm.

VI.8.1.2. Préconditionnement du capillaire

Le rinçage journalier du capillaire ou le preconditionnement d'un nouveau capillaire sont inspirées des procédures reportées dans la littérature [19,153,155,169]. Dans notre étude, ces procédures sont réalisées de la manière suivante (pour un capillaire de silice fondue de dimensions 50 ou 75 μm x 70 cm) :

- 5 psi pendant 5 minutes d'éthanol, afin de dissoudre les éventuels composés organiques adsorbés sur la paroi interne du capillaire ;
- 5 psi pendant 5 minutes d'eau désionisée pour éviter le mélange de produits chimiques au sein du capillaire ;
- 5 psi pendant 5 minutes de soude à 1 mol.L⁻¹, pour régénérer les silanols de surface de la paroi interne du capillaire ;
- à nouveau 5 psi pendant 5 minutes d'eau désionisée ;
- 5 psi pendant 5 minutes d'acide chlorhydrique à 1 mol.L⁻¹, pour régénérer les silanols de surface de la paroi interne du capillaire ;
- à nouveau 5 psi pendant 5 minutes d'eau désionisée ;
- 5 psi pendant 5 minutes d'électrolyte, afin d'équilibrer le capillaire.

VI.8.1.3. Choix du marqueur neutre

Le choix du marqueur neutre est assez large, au vu du nombre de molécules organiques neutres solubles dans l'eau. La littérature utilise un panel assez large de molécules et parmi celles-ci, on trouve les marqueurs neutres suivants : méthanol, éthanol, diméthylsulfoxyde (DMSO), diméthylformamide (DMF), tétrahydrofuranne (THF), formaldéhyde et acétonitrile.

Nous avons donc testé ces différents marqueurs neutres dans les conditions d'analyse des acides organiques (cf IV.2.4). Les résultats obtenus, en termes de temps de migration sont résumés dans le tableau suivant :

VI. Annexes

Marqueur neutre	Temps de migration (min)
Méthanol	12,15
Ethanol	12,16
DMSO	12,05
DMF	12,17
THF	12,08
Formaldéhyde	12,08
Acétonitrile	12,06

Tableau 30 : Temps de migration de divers marqueurs neutres.

Echantillons : chaque marqueur neutre à 10% en volume dans l'électrolyte.

Les temps de migration obtenus sont très proches, ce qui suggère une bonne répétabilité du flux électroosmotique entre les différentes analyses. Le méthanol, l'éthanol, le formaldéhyde, le THF et l'acétonitrile conduisent à la détection d'un couple de pics, l'un négatif puis l'autre positif, ce qui complexifie un peu l'électrophorégramme obtenu (cf figure 66), tandis que le DMF et le DMSO ne produisent qu'un seul pic (cf figure 67).

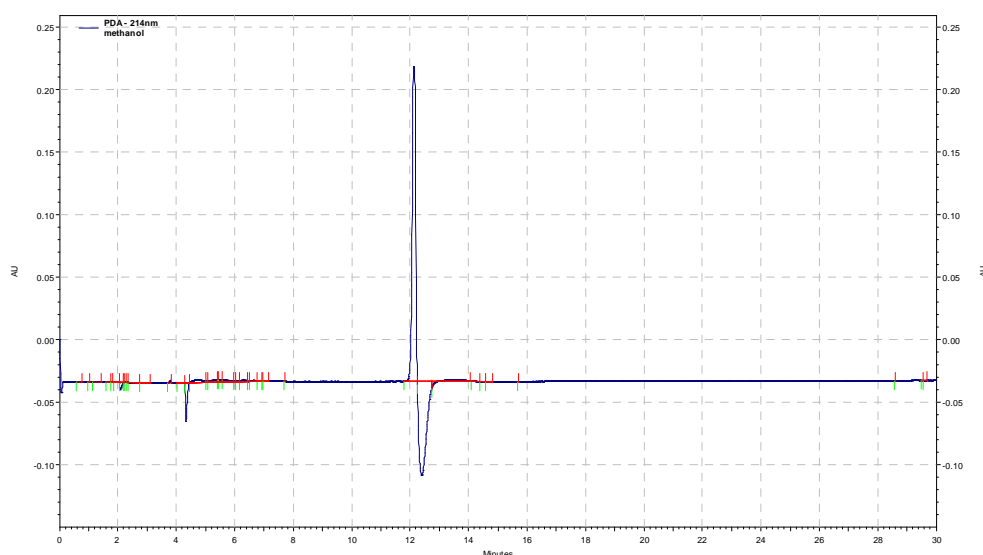


Figure 66 : Electrophorégramme du méthanol dans les conditions analytiques décrites précédemment. Détection UV/vis. inverse à 214 nm.

VI. Annexes

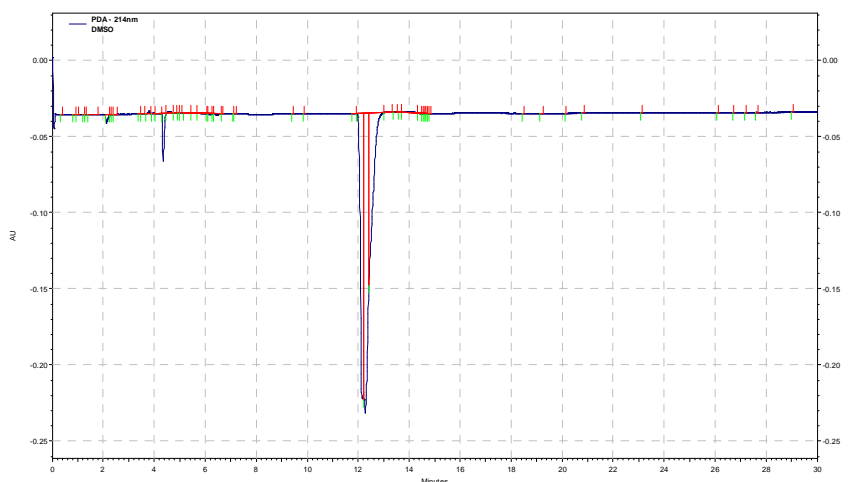


Figure 67 : Electrophorégramme du DMSO dans les conditions analytiques décrites précédemment. Détection UV/vis. inverse à 214 nm.

Les marqueurs neutres les plus adaptés sont donc le DMF et le DMSO. C'est pourquoi le DMSO a été choisi pour ce travail de thèse.

VI.8.1.4. Choix du type de capillaire grâce à la méthode de Vigh

Les capillaires standard sont faits de silice fondus et comportent un certain nombre de groupements silanols sur la paroi interne du capillaire, responsables du flux électroosmotique mais aussi de l'adsorption des cations sur la silice. Le greffage des silanols permet d'empêcher l'adsorption des analytes sur la paroi du capillaire. Pour minimiser ce phénomène, nous avons mesuré le flux électroosmotique de différents capillaires, greffés ou non, grâce à la méthode de Vigh.

VI.8.1.4.1. CAPILLAIRES ETUDIES

Les différents capillaires étudiés sont les suivants :

- capillaire de silice 70 cm x 50 μm ;
- capillaire de silice greffé par l'hydroxypolycellulose (HPC) 70 cm x 50 et 75 μm (réalisé à l'ENSCP avec l'aide de Fanny d'Orlyé et Anne Varenne selon le protocole décrit au paragraphe suivant) ;
- capillaire greffé polyacrylamide Beckman (greffage hydrophile) : eCAP™ Neutral Capillary 45 cm x 50 μm ;
- capillaire greffé polyvinylalcool Beckman (greffage hydrophobe) : eCAP™ N-CHO Capillary 65 cm x 50 μm ;

VI. Annexes

- capillaire greffé polyacrylamide Beckman : eCAP™ Neutral Capillary (SDS-MW), 65 cm x 100 μm ;
- capillaire greffé polyacrylamide Beckman : eCAP™ Neutral Capillary (DNA), 65 cm x 100 μm .

VI.8.1.4.2. PROTOCOLE DE GREFFAGE PAR L'HPC DES CAPILLAIRES DE SILICE [170]

On percole une solution d'hydroxypolycellulose 100000 à 5 % dans l'eau désionisée dans un capillaire de silice standard à petit débit. Une fois le capillaire rempli (une goutte de solution s'échappe de l'extrémité du capillaire), on cuit le polymère sous flux de diazote dans un four de chromatographie gazeuse. La procédure de cuisson consiste en un gradient de température jusqu'à 140°C, cette température étant ensuite maintenue pendant 30 minutes, puis on laisse refroidir le capillaire pendant 30 minutes. On vérifie que le capillaire n'est pas bouché en introduisant l'extrémité du capillaire dans de l'eau désionisée : si le flux de diazote s'échappe du capillaire en bullant dans l'eau désionisée, le capillaire est correctement greffé.

VI.8.1.4.3. METHODE DE VIGH [171]

La méthode de Vigh permet de mesurer de faibles flux électroosmotiques en un temps très court, grâce à une astucieuse utilisation des possibilités de l'électrophorèse capillaire. Ordinairement, on utilise le temps de migration d'un marqueur neutre pour mesurer le flux électroosmotique. Or, les temps de migration sont très grands quand le flux électroosmotique est faible. La méthode de Vigh (figure 68) permet de mesurer le flux électroosmotique (noté EO sur la figure) à partir de l'injection par surpression de trois bandes de marqueur neutre, puis application d'un champ électrique pendant un temps donné et enfin d'une nouvelle pression pour visualiser les trois pics de marqueur neutre.

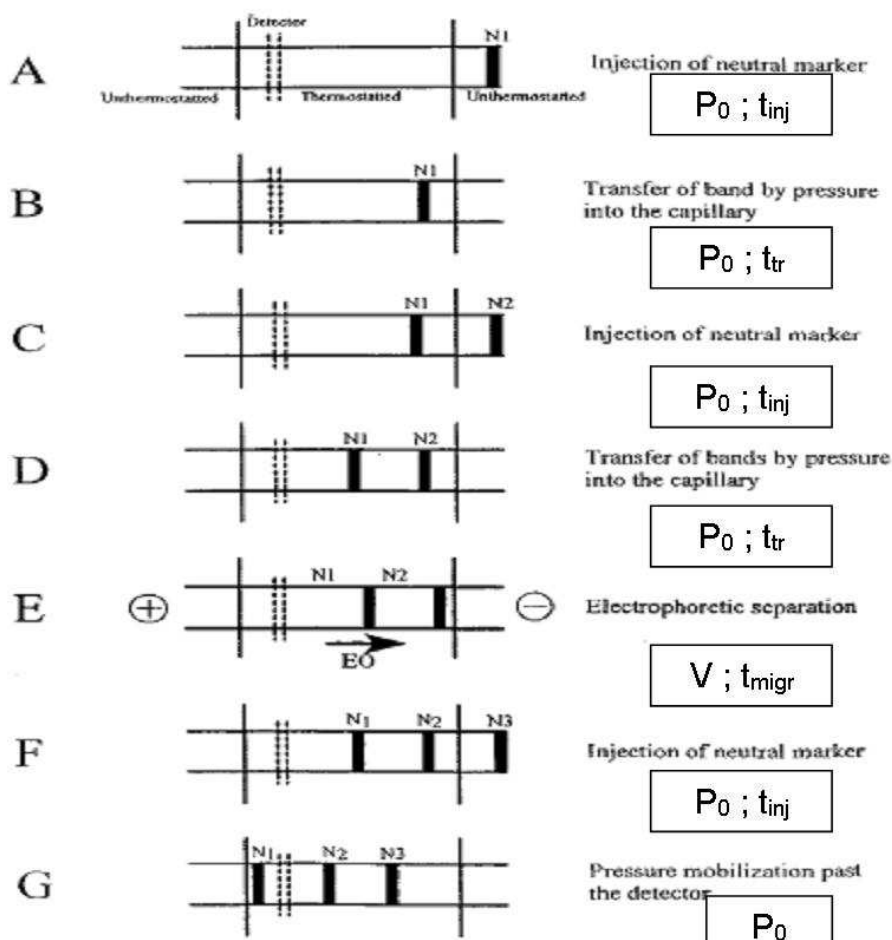


Figure 68 : Méthode de Vigh [171].

VI.8.1.4.4. APPLICATION AU CHOIX DU TYPE DE CAPILLAIRE

La méthode de Vigh est utilisée pour caractériser le flux électroosmotique des différents capillaires étudiés. L'électrolyte est constitué d'un tampon MES à pH = 6 ($I_{MES} = 25\text{mM}$) + 75mM NH_4Cl pour les capillaires de diamètre interne 50 ou $75\text{ }\mu\text{m}$ et un tampon MES pH = 6 ($I_{MES} = 12,5\text{ mmol.L}^{-1}$) + $37,5\text{ mmol.L}^{-1}$ NH_4Cl pour les capillaires de diamètre interne $100\text{ }\mu\text{m}$.

Les paramètres de la méthode de Vigh ont été fixés aux valeurs suivantes : $P = 5\text{ psi}$; $t_{inj} = 4\text{ s}$; $t_{tr} = 40\text{ s}$; $V = -15\text{ kV}$; $t_{migr} = 180\text{ s}$. Les mesures ont été réalisées 6 fois pour chaque capillaire.

VI. Annexes

Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 31 :

type de capillaire	Neutre	SDS-MW	ADN	N-CHO	Standard	HPC 75 μm	HPC 50 μm
$\mu\text{eo n}^\circ 1$	$2,06.10^{-5}$	$7,73.10^{-5}$	$6,65.10^{-6}$	$7,19.10^{-6}$	$8,28.10^{-5}$	$9,99.10^{-6}$	$1,46.10^{-5}$
$\mu\text{eo n}^\circ 2$	$2,03.10^{-5}$	$7,61.10^{-5}$	$9,21.10^{-6}$	$7,19.10^{-6}$	$9,39.10^{-5}$	$1,22.10^{-5}$	$1,35.10^{-5}$
$\mu\text{eo n}^\circ 3$	$1,97.10^{-5}$	$7,93.10^{-5}$	$8,68.10^{-6}$	$8,86.10^{-6}$	$8,87.10^{-5}$	$1,45.10^{-5}$	$1,50.10^{-5}$
$\mu\text{eo n}^\circ 4$	$1,97.10^{-5}$	$8,01.10^{-5}$	$9,71.10^{-6}$	$6,10.10^{-6}$	$8,33.10^{-5}$	$1,22.10^{-5}$	$1,35.10^{-5}$
$\mu\text{eo n}^\circ 5$	$1,92.10^{-5}$	$7,92.10^{-5}$	$1,02.10^{-5}$	$8,31.10^{-6}$	$8,90.10^{-5}$	$1,54.10^{-5}$	$1,18.10^{-5}$
$\mu\text{eo n}^\circ 6$	$2,02.10^{-5}$	$8,10.10^{-5}$	///	$8,87.10^{-6}$	$8,90.10^{-5}$	$1,44.10^{-5}$	$9,98.10^{-6}$
$\mu\text{eo moyenne (cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1})$	$20,0.10^{-6}$	$78,8.10^{-6}$	$8,9.10^{-6}$	$7,8.10^{-6}$	$87,8.10^{-6}$	$13,1.10^{-6}$	$13,1.10^{-6}$
écart-type relatif	2,6 %	2,3 %	15,5 %	14,3 %	4,7 %	15,3 %	14,2 %

Tableau 31 : Mesures des flux électroosmotiques de différents capillaires par la méthode de Vigh.

On constate que les capillaires greffés engendrent des flux électroosmotiques très faibles, de l'ordre de 10 % inférieurs à celui d'un capillaire standard. Toutefois, quelque soit le capillaire greffé utilisé, il y a environ 10 % de silanols résiduels, ce qui ne réduit pas dans une grande proportion la tendance à adsorber les cations multichargés [172]. Les capillaires de silice fondue ont donc été employés dans l'ensemble de l'étude menée au cours de cette thèse.

VI.8.2. Optimisation du fonctionnement du couplage EC-ICPMS

Nous avons étudié l'impact de la position du capillaire et de sa longueur sur la sensibilité et l'efficacité du pic de lanthane (dans les conditions analytiques du système lanthane-oxalate, cf IV.2.4.).

VI.8.2.1. Optimisation de la position du capillaire dans l'interface

Pour pouvoir étudier l'influence de la position du capillaire dans l'interface sur l'analyse du lanthane, nous avons développé un système au laboratoire (cf figures 69 et 70) permettant de faire varier et mesurer précisément (par pas de 20 μm) la distance entre l'extrémité du capillaire et le nez du nébuliseur.

La position de référence, nommée position zéro, est la position du capillaire pour laquelle son extrémité de sortie et le nez du nébuliseur coïncident exactement. Quand le capillaire est placé en retrait du nébuliseur, c'est-à-dire avec l'extrémité

VI. Annexes

dans le corps du nébuleur, la distance à la position zéro est considérée comme négative. En revanche, les positions pour lesquelles l'extrémité du nébuleur se trouve dans la mini-chambre de nébulisation correspondent à des valeurs positives de distance à la position zéro. Dans cette étude, les positions de l'extrémité du capillaire entre -8 mm et $+2\text{ mm}$ ont été examinées.

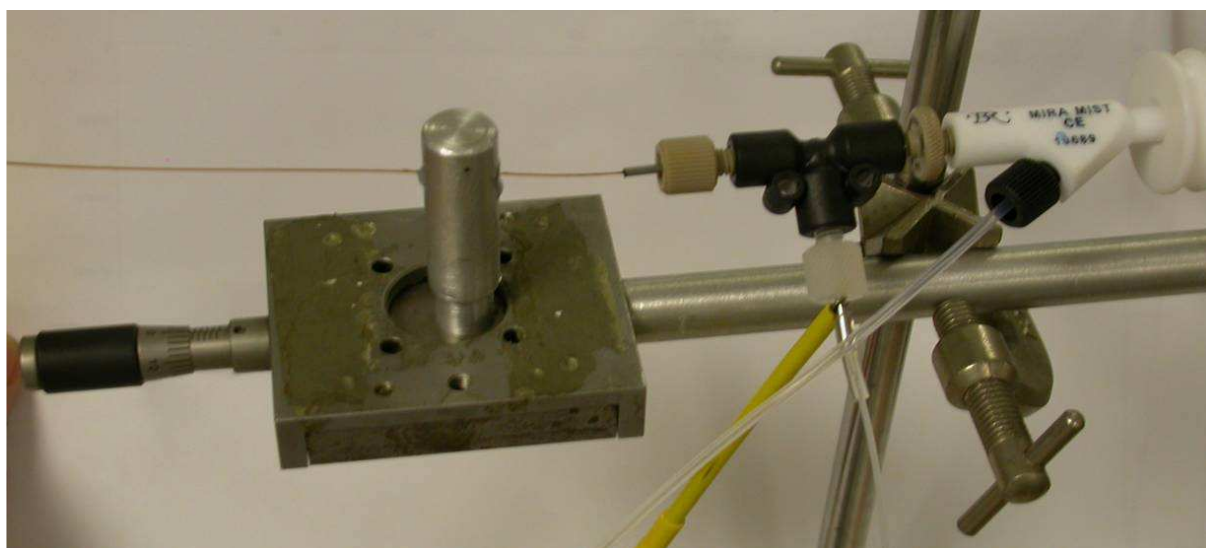


Figure 69: Photographie du dispositif développé au laboratoire (avec l'aide de Michel Tabarant du laboratoire CEA/DANS/DCP/LRSI) pour la mesure de la distance entre l'extrémité du capillaire et le nez du nébuleur.

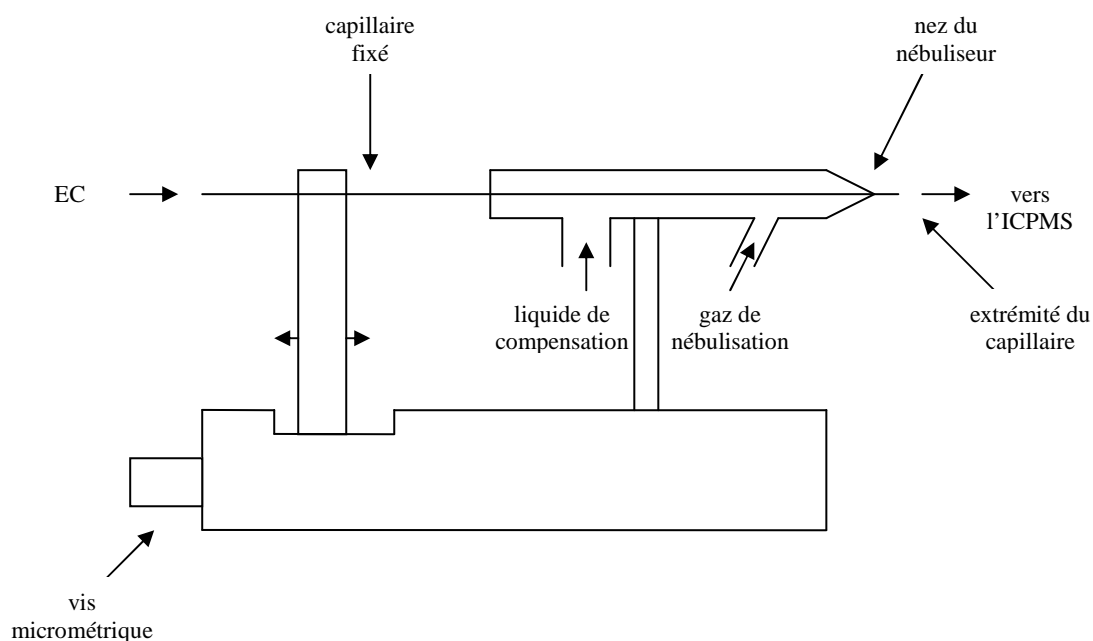


Figure 70 : Schéma du dispositif permettant le suivi de la position du capillaire.

VI. Annexes

La position optimale du capillaire dans l'interface Mira Mist CE doit être déterminée avec précision, afin de minimiser le volume mort et d'améliorer la sensibilité du couplage EC-ICPMS [3]. En effet, quand l'extrémité du capillaire est placée trop en avant par rapport au nez du nébuleur (positions positives), une perte significative de sensibilité, due à une mauvaise nébulisation, est observée. En outre, l'effet de succion de l'ICPMS peut engendrer un flux laminaire à l'intérieur du capillaire. Cependant, si le capillaire est placé trop en retrait par rapport au nez du nébuleur, la résolution des analytes est affectée par une augmentation du volume mort.

La sensibilité du couplage EC-ICPMS a été évaluée pour différentes positions du capillaire en mesurant la hauteur du pic du lanthane, dans les conditions analytiques de l'étude du système lanthane-oxalate. Pour chaque position, on mesure la sensibilité du signal de l'ICPMS au rapport m/z 139. La valeur trouvée est normalisée par la sensibilité à la position zéro, pour obtenir le paramètre de sensibilité S , qui tient compte des variations journalières de la sensibilité de l'EC-ICPMS.

$$S = \frac{\text{sensibilité}}{\text{sensibilité à la position zéro}} \quad (\text{Eq. 152})$$

Les expériences ont été répétées 3 fois. L'évolution du paramètre de sensibilité S en fonction de la position du capillaire est donnée par la figure 71.

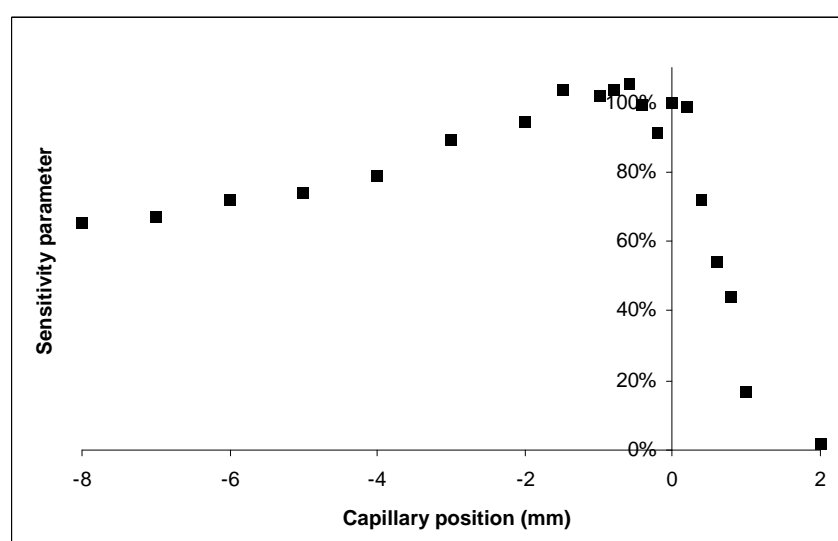


Figure 71: Variation du paramètre de sensibilité S en fonction de la position du capillaire.

Ce graphique montre que les positions négatives procurent de meilleurs résultats que les positions positives, comme on pouvait s'y attendre. Les positions

VI. Annexes

optimales se situent entre -2 mm et la position zéro. Comme la sensibilité décroît rapidement dans les positions positives, il est plus judicieux de se placer dans les positions optimales les plus négatives, puisque dans cette gamme de positions, une petite erreur sur la position du capillaire n'affecte pas la sensibilité de manière dramatique. La position optimale de l'extrémité du nébuliseur se situe donc à 1 mm en retrait du nez du nébuliseur. Cette position sera utilisée dans toutes les expérimentations de cette thèse.

A noter que la largeur et l'aire du pic ont aussi été mesurées en fonction de la position du capillaire et conduisent aux mêmes résultats.

VI.8.2.2. Optimisation de la longueur de capillaire

La longueur du capillaire est supposée avoir une influence sur l'efficacité du pic électrophorétique, en particulier à cause du fait que la température du capillaire n'est pas régulée dans l'interface EC-ICPMS. En raison de la géométrie de l'électrophorèse capillaire de Beckman Coulter, la longueur thermostatée est environ de 60 cm, alors qu'au moins 70 cm de capillaire sont nécessaires pour pouvoir connecter l'interface Mira Mist CE.

Ainsi, la variation de l'efficacité du pic de lanthane en fonction de la longueur totale du capillaire a été mesurée dans les conditions analytiques d'étude du système lanthane-oxalate. Pour différentes longueurs de capillaire, on mesure la largeur du pic à mi-hauteur puis on calcule son efficacité électrophorétique grâce à l'équation suivante [173] :

$$N = 5,54 \cdot \left(\frac{t_{MS}(La)}{\omega_{1/2}} \right)^2 \quad (\text{Eq.153})$$

où $t_{MS}(La)$ est le temps de migration du lanthane et $\omega_{1/2}$ est la largeur du pic à mi-hauteur. L'influence de la longueur du capillaire sur l'efficacité du pic électrophorétique est représentées en figure 72.

VI. Annexes

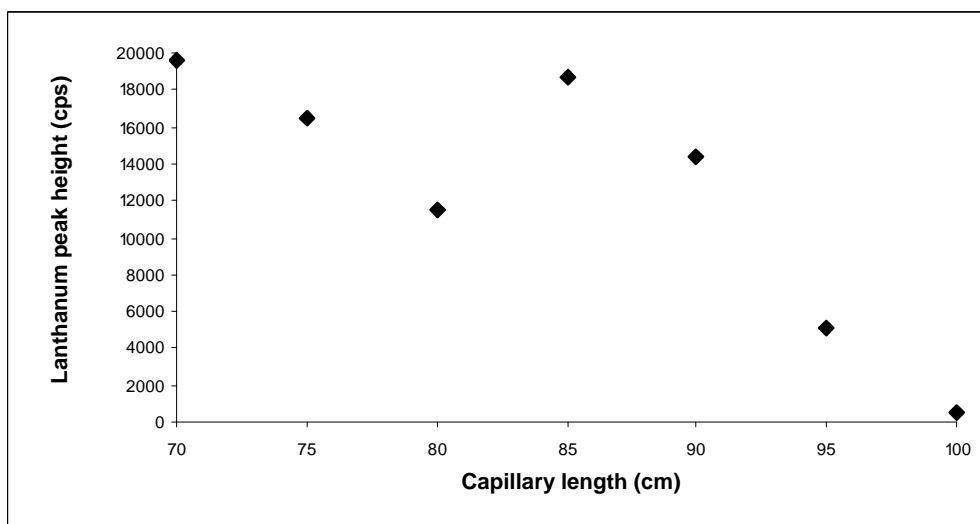


Figure 72 : Efficacité du pic du lanthane en fonction de la longueur totale du capillaire.

Ce graphique montre clairement que les capillaires les plus courts permettent la meilleure détection du pic du lanthane : en effet, l'efficacité décroît considérablement pour des longueurs supérieures à 90 cm. La mauvaise efficacité obtenue pour le capillaire de 80 cm peut s'expliquer par le fait que les expérimentations ont été menées une seule fois. En conclusion, le travail de cette thèse a été mené avec des capillaires de 70 cm de longueur totale, afin d'optimiser l'efficacité électrophorétique et de réduire autant que possible les temps de migration.

VI.9. Etude de la complexation entre l'uranium et la DFO

VI.9.1. Principe de l'étude

La DFO (desferrioxamine B) est une molécule complexante d'origine naturelle pouvant affecter la solubilité de l'uranium en conditions naturelles, même en présence de faibles concentrations [174]. C'est une molécule relarguée par les racines de certaines plantes, dans une stratégie d'acquisition du fer (principalement) [175]. La DFO (figure 73) peut être considérée comme un acide dur de Lewis, ce qui explique les constantes de complexation élevées avec les cations métalliques : $\log K \approx 10^{50}$ pour le Fe(III). Des valeurs très élevées ($> 10^{20}$ [37]) sont attendues pour les complexes 1-1 avec les actinides tels que Pu(VI) ou U(VI) [176].

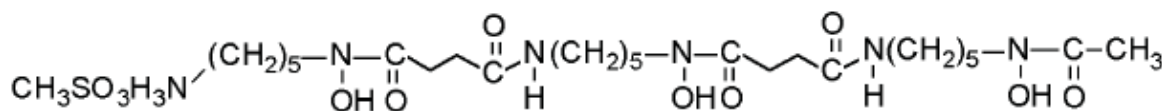


Figure 73 : Formule chimique du sidérophore DFO.

La DFO possédant 4 groupements acides, la formule chimique du complexe uranyle-DFO dépend du pH [37]. Au cours de cette étude, l'objectif est de déterminer la valeur de la constante de complexation entre l'ion uranyle et la DFO déprotonée deux fois, c'est-à-dire en conditions très acides ($\text{pH} < 4,5$). A ce pH d'étude, nous avons déjà vu précédemment que l'hydrolyse de l'uranium est négligeable.

Les complexes entre l'uranium et la DFO sont stables, puisque leur constante de complexation est très élevée, même en tenant compte de l'écart important entre le pH analytique et le pH d'ionisation de la DFO (ceci a pour effet de diminuer la valeur de la constante de complexation conditionnelle). Leur stabilité est vraisemblablement synonyme de cinétique lente, ce qui impose a priori de laisser les complexes se former dans l'échantillon pendant au moins une semaine avant l'analyse.

La première partie de cette étude a été réalisée par EC-ICPMS, afin de tenter de calculer la constante de complexation, mais devant les difficultés à interpréter les électrophorégrammes obtenus, il a fallu avoir recours à une autre technique analytique : la spectrophotométrie UV/visible. Celle-ci a permis d'observer la formation du complexe mais pas de calculer sa constante thermodynamique, probablement à cause de la réponse UV/vis. de l'uranium libre, comme nous le verrons à la fin de ce chapitre.

VI. Annexes

VI.9.2. Etude de la complexation U-DFO par EC-ICPMS

Deux protocoles expérimentaux similaires ont été utilisés, sans succès.

Le premier a déjà été présenté et discuté au cours de cette thèse, il s'agit du protocole adapté au système labile, pour lequel l'échantillon contient une concentration fixe de métal (et du DMSO) et l'électrolyte est composé d'un tampon pH, de sel de fond pour assurer une force ionique identique dans toutes les expérimentations et une quantité variable de ligand. Dans ce cas, la mobilité électrophorétique effective du métal diminue avec la concentration de ligand de l'électrolyte, ce qui est signe de la complexation du métal par le ligand.

Les figures 74 et 75 montrent les électrophorégrammes obtenus dans ces conditions sans et avec ajout de DFO dans le BGE.

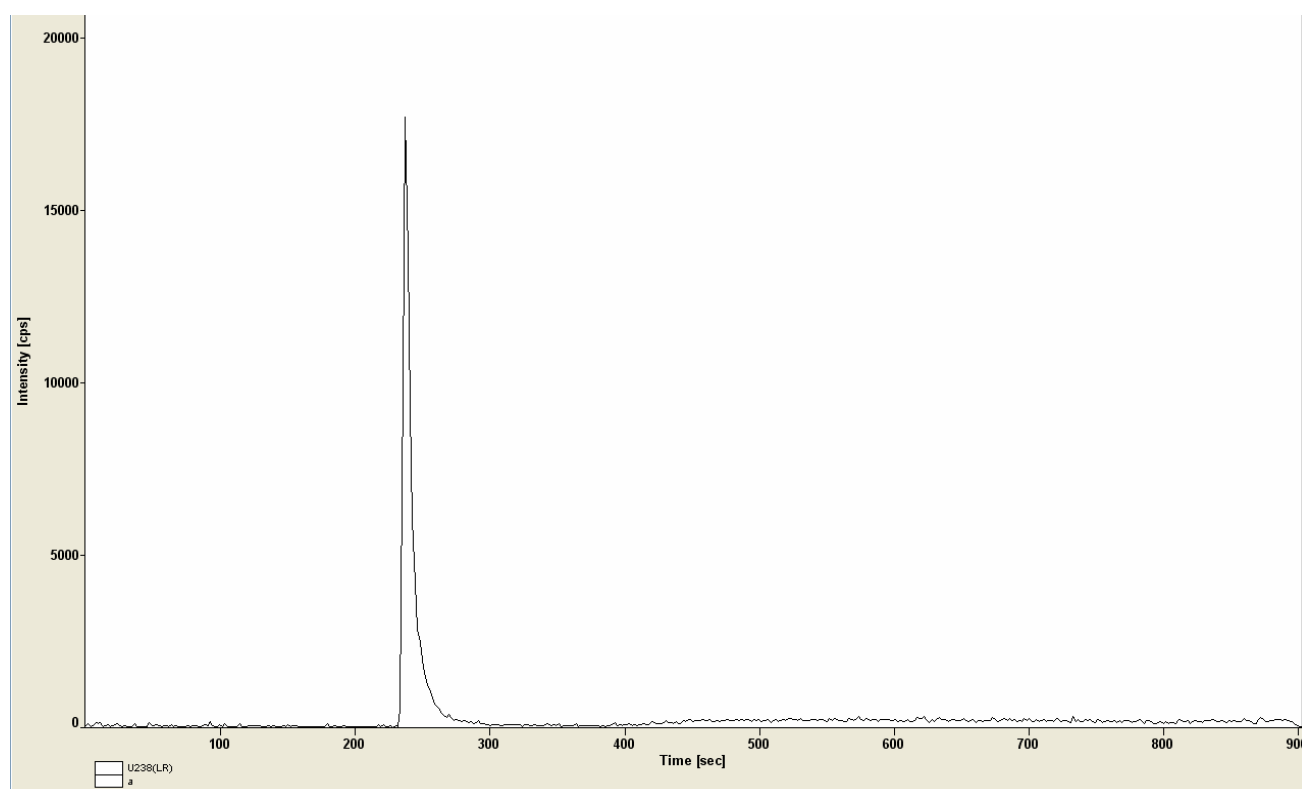


Figure 74 : Electrophorégramme de l'uranium libre.

Détection : ICPMS à $m/z = 238$.

BGE : tampon pyridine $pH = 3,5$ + NH_4Cl / $I_{tot} = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$

Echantillon : $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1} \text{ UO}_2(\text{ClO}_4)_2$ dilué dans le BGE.

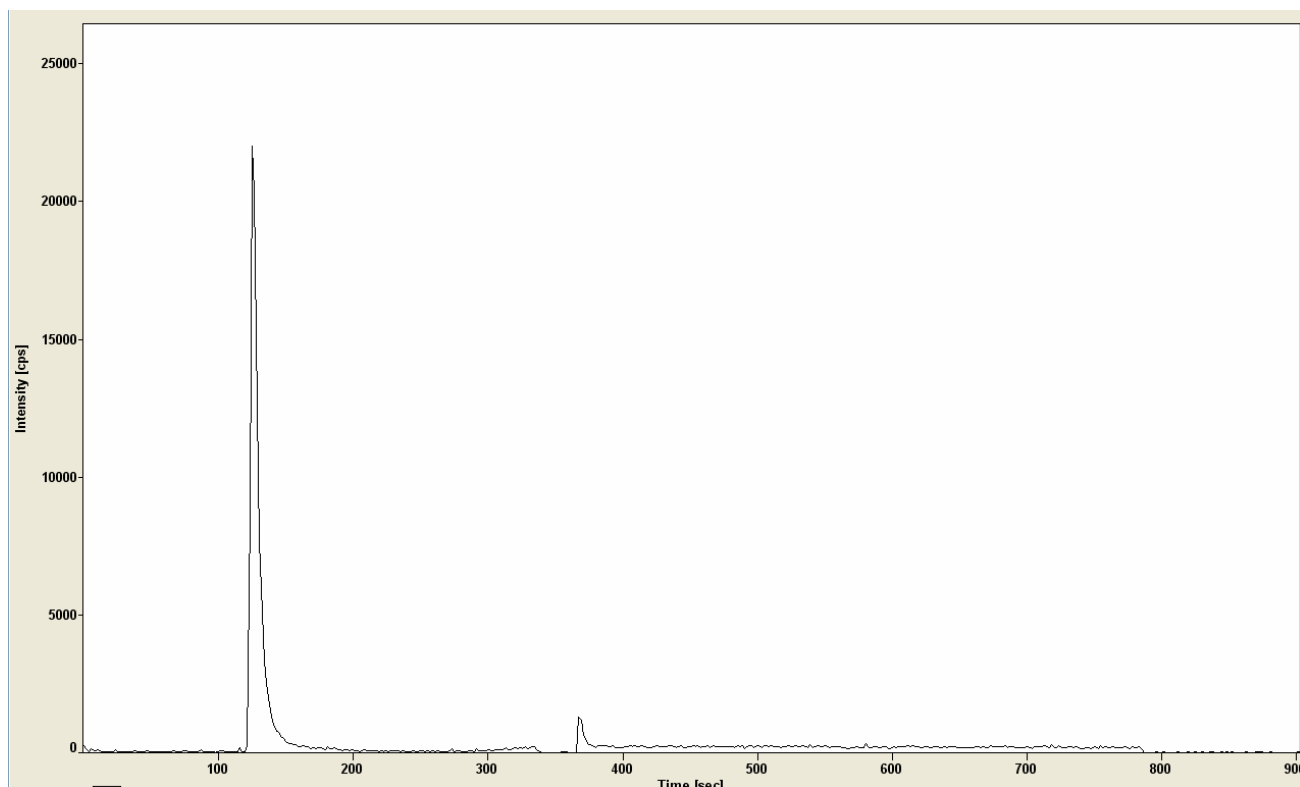


Figure 75 : Electrophorégramme de l'uranium en présence de DFO.

Détection : ICPMS à $m/z = 238$;

BGE : tampon pyridine $pH = 3,5$ + DFO $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ + NH_4Cl / $I_{\text{tot}} = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$;

Echantillon : $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1} \text{ UO}_2(\text{ClO}_4)_2$ dilué dans le BGE.

Ces deux électrophorégrammes montrent que l'uranium donne un seul pic de mobilité élevée avec ou sans DFO, ce qui signifie que la DFO ne complexe pas ou quasiment pas l'uranium dans ces conditions. De nombreuses autres conditions expérimentales ont été testées : pH de l'électrolyte égal à 4 ou 4,5, absence ou présence de DFO dans l'échantillon, différents temps d'équilibrage de l'échantillon (jusqu'à une semaine)... mais les résultats obtenus ne sont pas satisfaisants, on observe le même type de phénomène que dans les figures 74 et 75.

Le second protocole mis en place est adapté au cas des complexes stables. En effet, il est en tout point identique au précédent, sauf que le ligand est ajouté à l'échantillon au lieu de l'électrolyte. Le métal et le ligand doivent être mis en contact pendant un temps suffisant pour que la complexation ait le temps de se produire. Théoriquement, si le complexe est stable, il devrait être détecté par l'ICPMS à un temps de migration plus grand que celui de l'ion métallique libre. On devrait observer deux pics distincts, l'un correspondant au métal libre, l'autre au complexe. Dans ce cas, l'aire de chaque pic est proportionnelle à la concentration en solution, ce qui permet d'effectuer le calcul de la constante de complexation.

VI. Annexes

La figure 76 montre les résultats obtenus par ce protocole.

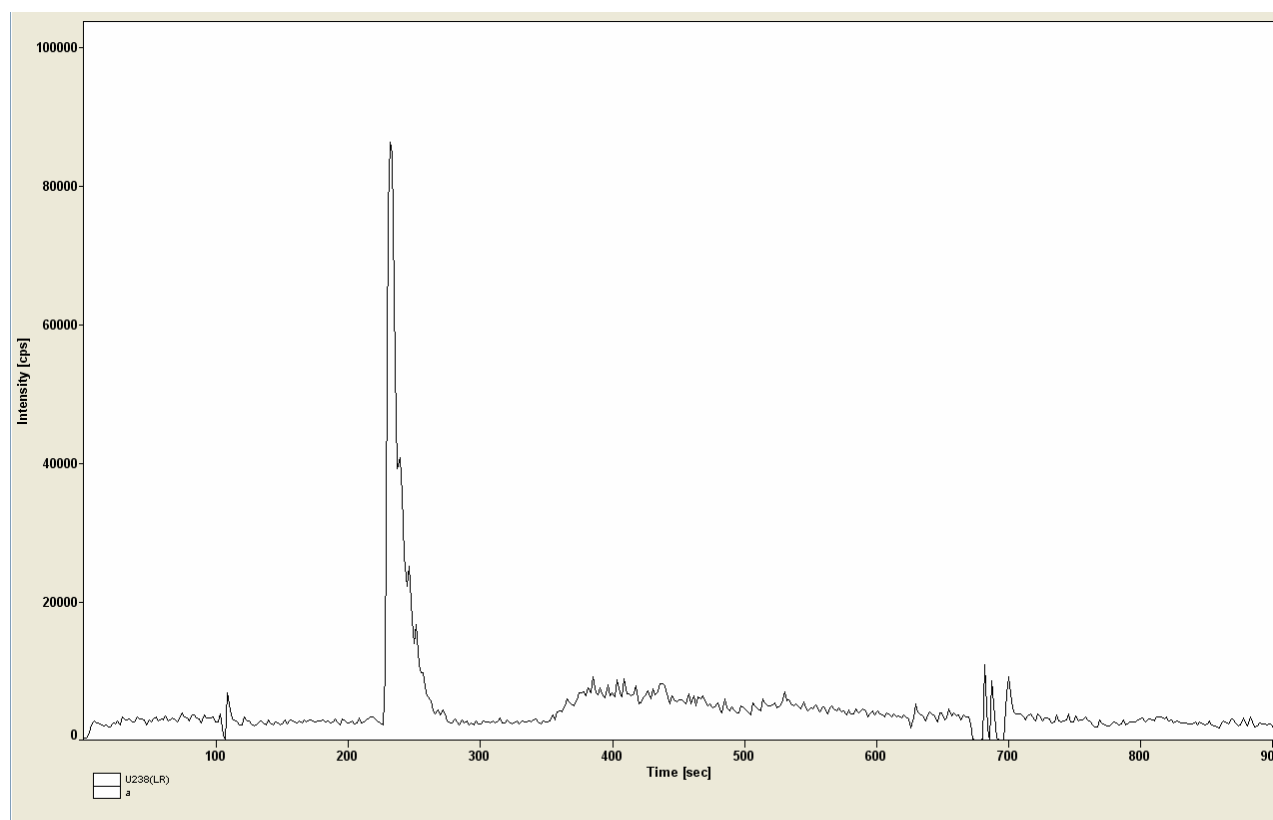


Figure 76 : Electrophorégramme obtenu avec un échantillon contenant uranium et DFO.

Détection : ICPMS à $m/z = 238$;

BGE : tampon pyridine $\text{pH} = 3,5 + \text{NH}_4\text{Cl}$ / $I_{\text{tot}} = 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$;

Echantillon : $\text{UO}_2(\text{ClO}_4)_2 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1} + \text{DFO } 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ dilués dans le BGE.

La figure 76 montre que l'uranium est détecté principalement sous forme libre dans ces conditions analytiques, ce qui signifie que le complexe n'est peut-être pas stable ou alors que sa cinétique est trop lente et qu'il n'a pas eu le temps de se former dans l'échantillon. On observe toutefois un petit pic étalé à partir de 400s, ce qui correspond au temps de migration des espèces neutres, et donc probablement au complexe UO_2DFO , mais la petite taille de ce pic n'est pas en accord avec la théorie (en effet, l'essentiel de l'uranium devrait être complexé en présence d'une telle concentration de DFO). Pourtant, de nombreux essais ont été menés pour améliorer la préparation de l'échantillon, mais sans résultats : passage aux ultrasons et dans un bain chauffant des échantillons, pH de l'échantillon à 3,5, 7 ou 11, préparation des échantillons à partir d'une solution mère concentrée en uranium et en DFO. Vraisemblablement, la cinétique de formation du complexe est lente à pH acide, mais à pH plus élevé, l'hydrolyse ou la complexation avec les carbonates perturbe la formation du complexe attendu avec la DFO. Une autre technique analytique a donc été envisagée : la spectrophotométrie UV/vis.

VI. Annexes

Il est intéressant de noter que les mêmes expérimentations ont été réalisées avec le lanthane comme élément métallique, mais ceci n'a pas permis de trouver les conditions analytiques adéquates.

VI.9.3. Etude de la complexation U-DFO par spectrophotométrie UV/vis.

Cette étude est basée sur les résultats présentés dans les travaux de Mullen *et al.*[37]. En effet, à pH 3,5, le complexe UO_2DFO (avec la DFO deux fois déprotoné) est censé être le seul pouvant se former, avec des maxima d'absorbance à $\lambda = 489$ nm et 383 nm. Si on mesure l'absorbance d'une solution contenant un excès de DFO et une certaine quantité d'uranium, seul le complexe UO_2DFO se trouve en solution. L'absorbance de la solution serait donc directement reliée à la concentration du complexe grâce à la relation de Beer-Lambert :

$$A_\lambda = \log\left(\frac{I_\lambda^0}{I_\lambda}\right) = \varepsilon_\lambda l [UO_2DFO] \quad (\text{Eq. 154})$$

Le protocole est donc le suivant : on procède par ajouts d'uranium successifs (jusqu'à atteindre une concentration de 10^{-4} mol.L⁻¹) dans une solution tamponnée contenant un excès de DFO (soit 10^{-1} mol.L⁻¹). L'absorbance mesurée de la solution croît avec la concentration du complexe UO_2DFO , c'est-à-dire avec la concentration totale de l'uranium en solution.

En combinant l'équation 154, la loi d'action de masse appliquée au complexe UO_2DFO et la conservation de la masse pour l'élément uranium, on obtient, après calcul :

$$A = \varepsilon_\lambda l \frac{K_I [DFO]_{tot}}{1 + K_I [DFO]_{tot}} [U]_{tot} \quad (\text{Eq. 155})$$

où K_I désigne la constante de complexation conditionnelle du complexe UO_2DFO et ε_λ son absorptivité molaire.

A λ et I fixés, on dispose d'une relation reliant l'absorbance à la concentration totale du métal (que l'on peut calculer puisque l'on procède par ajouts successifs). La pente de la droite obtenue, notée $p(\lambda, I)$ vaut $\varepsilon_\lambda l \frac{K_I [DFO]_{tot}}{1 + K_I [DFO]_{tot}}$.

Ainsi, l'acquisition des données expérimentales à deux forces ioniques différentes permet d'accéder aux valeurs de la pente pour ces deux forces ioniques. Or, $\frac{p(\lambda, I_1)}{p(\lambda, I_2)}$ s'exprime uniquement en fonction de $[DFO]_{tot}$, de K_{I1} et de K_{I2} . Grâce à l'équation de Davies, on peut exprimer K_I en fonction de K° et de I , donc finalement,

VI. Annexes

$\frac{p(\lambda, I_1)}{p(\lambda, I_2)}$ s'exprime en fonction de K° , I_1 , I_2 et $[\text{DFO}]_{\text{tot}}$. Ceci permet théoriquement de retrouver K° .

Les figures suivantes (77 et 78) rassemblent les résultats obtenus pour $I_1 = 52,5$ mmol.L⁻¹ et $I_2 = 100$ mol.L⁻¹, à deux longueurs d'onde.

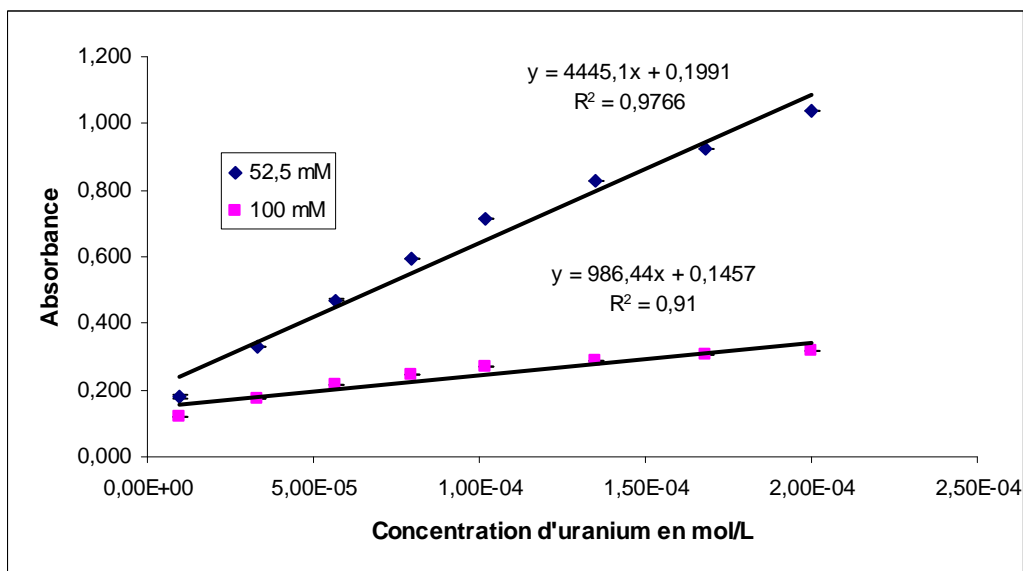


Figure 77 : Evolution de l'absorbance de la solution en fonction de la concentration totale d'uranium ajoutée pour $\lambda = 383$ nm.

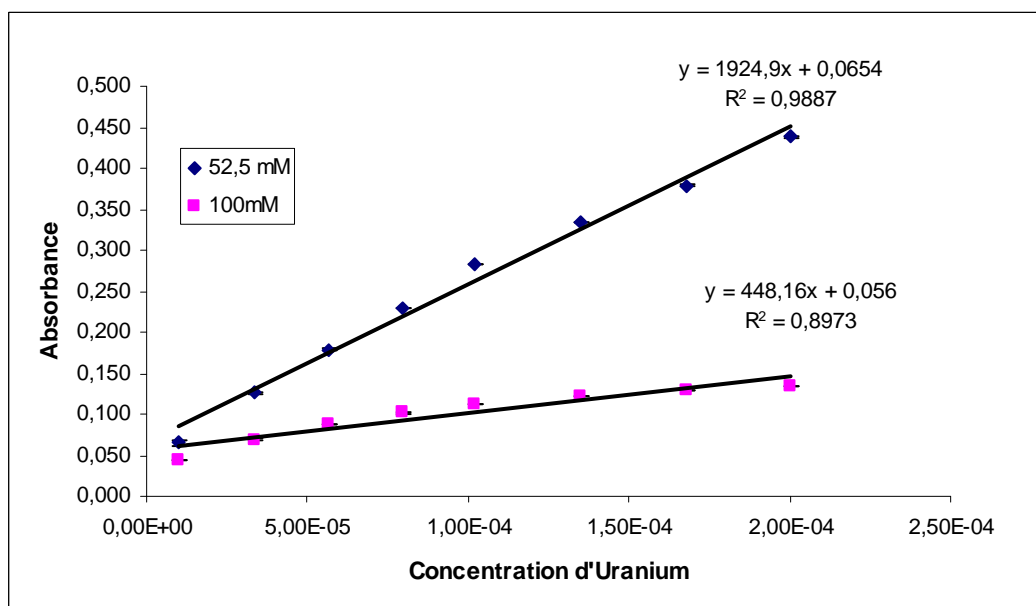


Figure 78 : Evolution de l'absorbance de la solution en fonction de la concentration totale d'uranium ajoutée pour $\lambda = 489$ nm.

VI. Annexes

Bien que l'absorbance mesurée dans les différentes conditions analytiques soit toujours proportionnelle à la concentration totale en uranium, les calculs conduisent à des valeurs aberrantes de constantes de complexation (avec ces valeurs, on trouve un K° négatif, ce qui n'a aucun sens du point de vue chimique). Il se peut que l'uranium ne soit pas totalement complexé et dans ce cas, l'absorbance mesurée provient en partie de l'uranium libre, et ne peut pas être utilisée pour le calcul de la constante de complexation.

Ces expériences indiquent malgré tout qu'il y a formation du complexe entre uranium et DFO dans la solution étudiée. D'autres protocoles devraient être testés pour tenter de mesurer cette constante de complexation. Il peut être envisagé de réaliser cette étude grâce à une autre technique analytique telle que la SLRT.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] V. Phrommavanh, thèse, Université Joseph Fourier - Grenoble I, Grenoble, 2008.
- [2] R.N. Collins, *Journal of Chromatography A* **1059** (2004) 1.
- [3] S.S. Kannamkurath, K. Wrobel, K. Wrobel, et al., *Journal of Chromatography A* **975** (2002) 245.
- [4] G. Alvarez-Llamas, M.R.F. delaCampa, A. Sanz-Medel, *Trends in Analytical Chemistry* **24** (2005) 28.
- [5] J.E. Sonke, V.J.M. Salters, *Journal of Chromatography A* **1159** (2007) 63.
- [6] R. Lobinski, *Spectrochimica Acta Part B* **53** (1998) 177.
- [7] P. Jitaru, C. Barbante, *Journal de Physique IV* **139** (2006) 269.
- [8] J. Szpunar, *Analyst* **125** (2000) 963.
- [9] J. Szpunar, R. Lobinski, A. Prange, *Applied Spectroscopy* **57** (2003).
- [10] C. Ambard, thèse, Université Paris XI, Orsay, 29 janvier 2007.
- [11] C.C. May, P.J. Worsfold, M.J. Keith-Roach, *Trends in Analytical Chemistry* **27** (2008) 160.
- [12] Y. Dudal, F. Gérard, *Earth-Science Reviews* **66** (2004) 199.
- [13] V. Philippini, thèse, Université Paris XI, Orsay, 10 Décembre 2007.
- [14] T. Vercouter, thèse, Université d'Evry Val d'Essonne, Saclay, 1er mars 2005.
- [15] C. Alliot, thèse, Université Evry Val d'Essonne, Evry, 9 juillet 2003.
- [16] V. Lourenço, thèse, Université Paris XI, Orsay, 5 juillet 2007.
- [17] D. Pombet, thèse, Paris, 20 mai 05.
- [18] A. Delorme, thèse, Université Paris XI, Orsay, 16 décembre 2003.
- [19] C. Ambard, A. Delorme, N. Baglan, J. Aupiais, F. Pointurier, C. Madic, *Radiochimica Acta* **93** (2005) 665.
- [20] G.R. Choppin, *Marine Chemistry* **99** (2006) 83.
- [21] W.J.G.M. Peijnenburg, T. Jager, *Ecotoxicology and Environmental Safety* **56** (2003) 63.
- [22] G. Echevarria, M.I. Sheppard, J. Morel, *Journal of Environmental Radioactivity* **53** (2001) 257.
- [23] S. Ebbs, D. Brady, L. Kochian, *Journal of Experimental Botany* **49** (1998) 1183.
- [24] V. Moulin, C. Moulin, *Radiochimica Acta* **89** (2001) 773.
- [25] G.R. Choppin, *Radiochimica Acta* **58-9** (1992) 113.
- [26] L. Aguilar, L.J. Thibodeaux, *Chemosphere* (2005) 1309.
- [27] E.L. Shock, C.M. Koretsky, *Geochimica and Cosmochimica Acta* **59** (1995) 1497.
- [28] J.F. McCarthy, W.E. Sanford, P.L. Stafford, *Environmental Science and Technology* (1998) 3901.
- [29] B.W. Strobel, *Geoderma* **99** (2001) 169.
- [30] S.-J. You, Y. Yin, H.E. Allen, *The Science of The Total Environment* **227** (1999) 155.
- [31] P. Rajec, P. Gerhart, F. Macasek, I.S. Shaban, P. Bartos, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **241** (1999) 37.

Références bibliographiques

- [32] K. Wrobel, B.B.M. Sadi, J.R. Castillo, J.A. Caruso, *Analytical Chemistry* **75** (2003) 761.
- [33] S.A. Wood, *Ore Geology Reviews Organics and Ore Deposits* **11** (1996) 1.
- [34] R. Artinger, T. Rabung, J.I. Kim, S. Sachs, K. Schmeide, K.H. Heise, G. Bernhard, H. Nitsche, *Journal of Contaminant Hydrology* **58** (2002) 1.
- [35] A. Itoh, H. Haraguchi, *Chemistry Letters* (1994) 1627.
- [36] Y.J. Zhang, N.D. Bryan, F.R. Livens, M.N. Jones, *Environmental Pollution* **96** (1997) 361.
- [37] L. Mullen, C. Gong, K. Czerwinski, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **273** (2007) 683.
- [38] P.A.W. Van_Hees, J. Dahlén, U.S. Lundström, H. Borén, B. Allard, *Talanta* **48** (1999) 173.
- [39] P.A.W. van Hees, S.I. Vinogradoff, A.C. Edwards, D.L. Godbold, D.L. Jones, *Soil Biology and Biochemistry* **35** (2003) 1015.
- [40] P.A.W. Van Hees, U.S. Lundström, R. Giesler, *Geoderma* **94** (2000) 173.
- [41] M. Tani, T. Higashi, S. Nagatsuka, *Soil Science & Plant Nutrition* **39** (1993) 485.
- [42] C.J. Dodge, A.J. Francis, *Environmental Science and Technology* **28** (1994) 1300.
- [43] E.H. Bailey, J.F.W. Mosselmans, P.F. Schofield, *Chemical Geology* **216** (2005) 1.
- [44] A.G. Brits, R. Van Eldik, J.A. Van Den Berg, *Journal of Inorganic and Nuclear Chemistry* **39** (1977) 1195.
- [45] A. Abdelouas, Y. Lu, W. Lutze, H.E. Nuttall, *Journal of Contaminant Hydrology* **35** (1998) 217.
- [46] B. Wielinga, B. Bostick, C.M. Hansel, R.F. Rosenzweig, S. Fendorf, *Environmental Science and Technology* **34** (2000) 2190.
- [47] Y.A. Gorby, D.R. Lovley, *Environmental Science and Technology* **26** (1992) 205.
- [48] A. Abdelouas, W. Lutze, W. Gong, E.H. Nuttall, B.A. Strietelmeier, B.J. Travis, *The Science of The Total Environment* **250** (2000) 21.
- [49] A. Abdelouas, W. Lutze, E. Nuttall, *Journal of Contaminant Hydrology* **34** (1998) 343.
- [50] W. Stumm, J.J. Morgan, "Aquatic Chemistry – Third Edition", Wiley-Interscience New York (1996).
- [51] R. Ganesh, K. Robinson, G. Reed, G. Sayler, *Applied and Environmental Microbiology* (1997) 4385.
- [52] R.K. Sani, B.M. Peyton, J.E. Amonette, G.G. Geesey, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68** (2004) 2639.
- [53] L. Gorgeon, thèse, Pierre et Marie Curie University Paris VI, Paris VI, 1994.
- [54] T. Allard, G. Calas, P. Ildefonse, G. Morin, J.-P. Muller, *Earth and Planetary Science* **325** (1997) 1.
- [55] E. Curti, *Applied Geochemistry* **14** (1999) 433.
- [56] A. Bergelin, P.A.W. van Hees, O. Wahlberg, U.S. Lundstrom, *Geoderma* (2000) 223.
- [57] I. Grenthe, J. Fuger, R.J.M. Konings, R.J. Lemire, A.B. Muller, C. Nguyen-Trung, H. Wanner, "NEA T1 - Chemical thermodynamics of uranium", Elsevier BV, Amsterdam (1992).

Références bibliographiques

- [58] W. Hummel, G. Anderegg, I. Puigdomènech, L. Rao, O. Tochiyama, "NEA T9 – Chemical Thermodynamics of Compounds and Complexes of U, Np, Pu, Am, Tc, Se, Ni and Zr with Selected Organic Ligands", Elsevier, Amsterdam, 2005.
- [59] R. Guillaumont, T. Fanghänel, J. Fuger, I. Grenthe, V. Neck, D.A. Palmer, M.H. Rand, "NEA T5 - Update on the Chemical Thermodynamics of Uranium, Neptunium, Plutonium, Americium and Technetium", Elsevier, Amsterdam, 2003.
- [60] L.D. Pettit, K.J. Powell, "IUPAC SC-Database", Academic Software (1999).
- [61] W. Hummel, U. Berner, E. Curti, F.J. Pearson, T. Thoenen, "NAGRA/PSI Chemical Thermodynamic Data Base 01/01", Universal Publishers (2002).
- [62] J. van_der_Lee, L.D. Windt, "CHESS Software v.3.0", Ecole des Mines de Paris, Paris (2002).
- [63] L. Bion, *Radiochimica Acta* **91** (2003) 633.
- [64] P. Daniele, A.d. Robertis, C.d. Stefano, *J.Chem.Res.(S)* **300** (1990).
- [65] R. Moore, e. al., *J.Sol.Chem* **28** (1999) 251.
- [66] J.-M. Mermet, E. Poussel, *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*, p 2720.
- [67] M. Caude, A. Jardy, *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation* pe 1455.
- [68] M. Novic, P.R. Haddad, *Journal of Chromatography A* **1118** (2006) 19.
- [69] T. Hanai, *Journal of Chromatography A* **989** (2003) 183.
- [70] M. Potin-Gautier, C. Casiot, *Techniques de l'Ingénieur, traité Analyse et Caractérisation*, p 3872.
- [71] P. Gareil, *Analusis* **18** (1990) 221.
- [72] K. Kok, *Chromatographia* **51 suppl S** (2000) 5.
- [73] J.H. Knox, *Chromatographia* **26** (1988) 329.
- [74] K.D. Lukacs, J.W. Jorgenson, *Journal of High Resolution Chromatography* **8** (1985) 407.
- [75] H.H. Lauer, D. McManigill, *Analytical Chemistry* **58** (1998) 166.
- [76] J.K. Towns, F.E. Repier, *Analytical Chemistry* **63** (1991) 1126.
- [77] X. Huang, L.J. Doneski, M.J. Wirth, *Analytical Chemistry* **70** (1998) 4023.
- [78] F.B. Erim, A. Cifuentes, H. Poppe, et al., *Journal of Chromatography A* **708** (1995) 356.
- [79] C.A. Lucy, R.S. Underhill, *Analytical Chemistry* **68** (1996) 300.
- [80] N.E. Barylá, C.A. Lucy, *Analytical Chemistry* **72** (2000) 2280.
- [81] M.M. Yassine, C.A. Lucy, *Analytical Chemistry* **76** (2004) 2983.
- [82] J.E. Melanson, N.E. Barylá, C.A. Lucy, *Analytical Chemistry* **72** (2000) 4110.
- [83] P.N. Pathak, G.R. Choppin, *Radiochimica Acta* **95** (2007) 245.
- [84] Z. Hongxia, TaoZuyi, *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **254** (2002) 103.
- [85] M. Macka, P. Nesterenko, P.R. Haddad, *J. Microcolumn Separations* **11** (1999) 1.
- [86] G.E. Collins, Q. Liu, *Analytica Chimica Acta* **436** (2001) 181.
- [87] G.E. Collins, Q. Liu, *Sensors and Actuators B* **76** (2001) 244.

Références bibliographiques

- [88] M.E. Lacey, A.G. Webb, J.V. Sweedler, *Analytical Chemistry* **72** (2000) 4991.
- [89] O. Schramel, B. Michalke, A. Kettrup, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14** (1999) 1339.
- [90] Y.Y. Chan, W.T. Chan, *Journal of Chromatography A* **853** (1999) 141.
- [91] M. Van_Holderbeke, Y. Zhao, F. Vanhaecke, L. Moens, R. Damsa, P. Sandrab, *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **14** (1999) 229.
- [92] L. Bendahl, B. Gammelgaard, O. Jùns, O. Farver, S.H. Hansen, *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **16** (2001) 38.
- [93] A. Delorme, thèse, Université Paris XI, Orsay, 16 décembre 2003.
- [94] J.W. Olesik, J.A. Kinser, S.V. Olesik, *Analytical Chemistry* **87** (1995) 1.
- [95] Q. Lu, S.M. Bird, R.M. Barnes, *Analytical Chemistry* **67** (1995) 2949.
- [96] F. Vanhaecke, M. Van_Holderbeke, L. Moens, et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* (1996) 543.
- [97] J.A. Kinzer, J.W. Olesik, S.V. Olesik, *Analytical Chemistry* **68** (1996) 3250.
- [98] Y. Liu, V. Lopez-Avila, J.J. Zhu, D.R. Wederin, W.F. Beckert, *Analytical Chemistry* **67** (1995) 2020.
- [99] P.W. Kirlaw, J.A. Caruso, *Applied Spectroscopy* **52** (1998) 770.
- [100] E.G. Yanes, N.J. Miller-Ihli, *Spectrochimica Acta Part B* **59** (2004) 883.
- [101] E. Mei, H. Ichihashi, W. Gu, S.-i. Yamasaki, *Analytical Chemistry* **69** (1997) 2187.
- [102] J.A. Day, J.A. Caruso, J.S. Beckerb, H.-J. Dietzeb, *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **15** (2000) 1343.
- [103] A. Prange, D. Schaumlöffel, *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **14** (1999) 1329.
- [104] C. B'hymer, R.M.C. Sutton, K.L. Sutton, et al., *Analytical Communications* **36** (1999) 349.
- [105] D. Schaumlöffel, J.R. Encinar, R. Łobinski, *Analytical Chemistry* **75** (2003) 6837.
- [106] J. Aupiais, A. Delorme, N. Baglan, *Journal of Chromatography A* **994** (2003) 199.
- [107] I. Mato, S. Suarez-Luque, J.F. Huidobro, *Food Research International* **38** (2005) 1175.
- [108] M. Llorente, B. Villarroya, C. Gomez-Cordovés, *Chromatographia* **32** (1991) 555.
- [109] M. Pazo, C. Traveso, M.C. Cisneros, E. Montero, *Alimentaria* (1999) 139.
- [110] A.H. Aktas, S. Sen, M. Yilmazer, E. Cubuk, *Iranian Journal of Chemistry & Chemical Engineering* **24** (2005) 1.
- [111] A.J. Krzyszowska, M.J. Blaylock, G.F. Vance, M.B. David, *Soil Science Society of America Journal* **60** (1996) 1565.
- [112] J.J. Hunter, J.H. Visser, O.T. De_Villiers, *American Journal of Enology and Viticulture* **42** (1991) 237.
- [113] M. Castellari, A. Versari, U. Spinabelli, S. Galassi, A. Amati, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **23** (2000) 2047.
- [114] C. Mongay, A. Pastor, C. Olmos, *Journal of Chromatography A* **736** (1996) 351.
- [115] M.J. Nozal, J.L. Bernal, J.C. Diego, L.A. Gomez, M. Higes, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **26** (2003) 1231.
- [116] Y. Soyer, N. Koca, F. Karadeniz, *Journal of Food Composition and Analysis* **16** (2003) 629.

Références bibliographiques

- [117] I.G. Casella, M. Gatta, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50** (2002) 23.
- [118] P. Chinnici, U. Spinabelli, A. Amati, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* **25** (2002) 2551.
- [119] G. Weber, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **340** (1991) 161.
- [120] G.L. Kerven, Z. Ostatek-Boczynski, D.G. Edwards, C.J. Asher, J. Oweczkin, *Plant Soil* **171** (1995) 29.
- [121] P. Brätter, I.N. Blasco, V.E.N. de_Brätter, A. Raab, *Analyst* **123** (1998) 821.
- [122] P.M. Bertsch, M.A. Anderson, *Analytical Chemistry* **61** (1989) 535.
- [123] T. Bantan, R. Milacic, B. Mitrovic, B. Pihlar, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **365** (1999) 545.
- [124] T. Bantan, R. Milacic, B. Mitrovic, B. Pihlar, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **14** (1999) 1743.
- [125] P. Svete, R. Milacic, B. Mitrovic, B. Pihlar, *Analyst* **126** (2001) 1246.
- [126] A.A. Ammann, *Journal of Chromatography A* **947** (2002) 205.
- [127] J. Havel, J. Soto-Guerrero, P. Lubal, *Polyhedron* **21** (2002) 1411.
- [128] P. Janoš, *Journal of Chromatography A* **1037** (2004) 15.
- [129] J.N. Bronsted, *J. Am. Chem. Soc.* **44** (1922) 877.
- [130] P. Debye, D. Hückel, *Physik Z.* **24** (1923) 185.
- [131] C.V. Davis, *J. Chem. Soc.* (1938) 2093.
- [132] G. Scatchard, *Chem. Rev.* **19** (1936) 309.
- [133] E.A. Guggenheim, "Application of statistical mechanics", Clarendon Press, Oxford (1966).
- [134] K.S. Pitzer, "Activity coefficients in electrolyte solutions 2nde edition", CRC Press (1991).
- [135] J.E. Sonke, V.J.M. Salters, *Analyst* **129** (2004) 731.
- [136] L. Helm, A.E. Merbach, *Coordination Chemistry Reviews* **187** (1999) 151.
- [137] S.A. Wood, *Engineering Geology* **34** (1993) 229.
- [138] I. Farkas, I. Banyai, Z. Szabo, U. Wahlgren, I. Grenthe, *Inorganic Chemistry* **39** (2000).
- [139] T. LeSaux, A. Varenne, F. Perreau, L. Siret, S. Duteil, L. Duhaub, P. Gareil, *Journal of Chromatography A* **1132** (2006) 289.
- [140] K.L. Rundlett, D.W. Armstrong, *Journal of Chromatography A* **721** (1996) 173.
- [141] M.T. Bowser, D.D.Y. Chen, *Journal of Physical Chemistry A* **103** (1999) 197.
- [142] M. Neuilly, "Modélisation et estimation des erreurs de mesures", Lavoisier, Techniques & Documentation, Paris (1998).
- [143] K.L. Rundlett, D.W. Armstrong, *Electrophoresis* **18** (1997) 2194.
- [144] A. Anderko, M.M. Lencka, *Ind. Eng. Chem. Res.* **36** (1997) 1932.
- [145] N.E. Good, G.D. Winget, W. Winter, T.N. Connolly, S. Izawa, R.M.M. Singh, *Biochemistry* **5** (1966) 467.
- [146] G. Schaldach, H. Berndt, B.L. Sharp, *Journal of Analytical Atomic Spectroscopy* **18** (2003) 742.
- [147] C.F. Baes, R.E. Mesmer, "The hydrolysis of cations", John Wiley & Sons, New York (1976).

Références bibliographiques

- [148] I. Grenthe, H. Wanner, "Guidelines for the extrapolation to zero ionic strength", Elsevier, Amsterdam (2000).
- [149] J. Schijf, R.H. Byrne, *Geochimica and Cosmochimica Acta* **65** (2001) 1037.
- [150] J. Petit, V. Geertsens, C. Beaucaire, M. Stambouli, *Journal of Chromatography A* **1216** (2009) 4113.
- [151] P.D. Grossman, J.C. Colburn, "Capillary Electrophoresis – Theory & practice." , San Diego (1992).
- [152] D. Li, S. Fu, C.A. Lucy, *Analytical Chemistry* **71** (1999) 687.
- [153] C.H. Wu, Y.S. Lo, Y.-H. Lee, T.-I. Lin, *Journal of Chromatography A* **716** (1995) 291.
- [154] A. Röder, K. Bächmann, *Journal of Chromatography A* **689** (1995) 305.
- [155] B. Westergaard, H.C.B. Hansen, O.K. Borggaard, *Analyst* **123** (1998) 721.
- [156] I. Ahumada, J. Mendoza, P. Escudero, k. Mossert, L. Ascar, *Journal of AOAC International* **84** (2001) 1057.
- [157] G.A. Blanco-Heras, M.I. Turnes-Carou, P. Lopez-Mahia, S. Muniategui-Lorenzo, D.i. Prada-Rodriguez, E. Fernandez-Fernandez, *Journal of Chromatography A* **1144** (2007) 275.
- [158] P.R. Haddad, A.H. Harakuwe, W. Buchberger, *Journal of Chromatography A* **706** (1995) 571.
- [159] G.T. Seaborg, W.D. Loveland, "The Elements beyond Uranium", Wiley-Interscience (1990).
- [160] D. Nebel, *Zeitschrift für Physikalische Chemie* **232** (1966) 368.
- [161] N. Krot, N. Ermolaev, A. Gelman, *Zhur.Neorg.Khim.* **7** (1962) 2054.
- [162] E. Piskunov, A. Rykov, *Radiokhim.* **14** (1972) 260.
- [163] S. Ramamoorth, M. Santappa, *Curr.Sci.* **37** (1968) 403.
- [164] R. Bucci, et al., *Analytical Chemistry* **88** (1998) 25.
- [165] S. Hjertén, *Chromatogr. Rev.* **9** (1967) 122.
- [166] F.M. Everaerts, W.M.L. Hoving-Keulemans, *Sci. Tools* **17** (1970) 25.
- [167] M. Taverna, I.L. Potier, P. Morin, *Techniques de l'Ingénieur* 3366-2.
- [168] D. DiBenedetto, P. Breuil, *Techniques de l'ingénieur P 2* 795 v2.
- [169] T.-I. Lin, Y.-H. Lee, Y.-C. Chen, *Journal of Chromatography A* **654** (1993) 167.
- [170] Y. Shen, R.D. Smith, *Journal of Microcolumn Separations* **12** (2000) 135.
- [171] B.A. Williams, G. Vigh, *Analytical Chemistry* **68** (1996) 1174.
- [172] M. Macka, P. Nesterenko, P. Andersson, P.R. Haddad, *Journal of Chromatography A* **803** (1998) 279.
- [173] N. Dyson, "Chromatographic Integration Methods – Second Edition", The Royal Society of Chemistry, Cambridge (1998).
- [174] J.R. Brainard, B.A. Strietelmeier, P.H. Smith, P.J. Langston-Unkefer, M.E. Barr, R.R. Ryan, *Radiochimica Acta* **58/59** (1992) 357.
- [175] D. Wolff-Boenisch, S.J. Traina, *Chemical Geology* **243** (2007) 357.
- [176] B.J. Hernlem, L.M. Vane, F.S. Sayles, *Inorganica Chimica Acta* **244** (1996) 179.